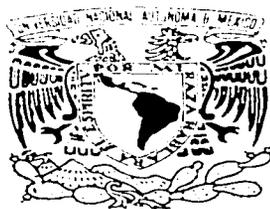


702 24 4
31
1997
1997

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA



División de Estudios de Postgrado

**Instituto Nacional de la Nutrición
" Salvador Zubiran "**

TESIS DE ESPECIALIDAD

MEDICINA DEL ENFERMO EN ESTADO CRITICO

**"Metabolitos Tóxicos del Oxígeno Papel
Fisiopatológico en el Paciente Séptico"**

TESIS CON *Dr. José de Jesús Bueno Almanza*
FALLA DE ORIGEN

1997



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE POSTGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION
"SALVADOR ZUBIRAN"
DIVISION DE MEDICINA CRITICA

E S P E C I A L I D A D
MEDICINA DEL ENFERMO EN ESTADO CRITICO

"METABOLITOS TOXICOS DEL OXIGENO
PAPEL FISIOPATOLOGICO EN EL PACIENTE SEPTICO"

A U T O R

Dr. José de Jesús Bueno Almona

A S E S O R

Dr. JOSE MANUEL PORTELA ORTIZ

INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION
SALVADOR ZUBIRAN
SUB-DIRECCION DE ENSEÑANZA
Mexico, D. F.

- 1 9 9 5 -

SE PRESENTA EL TRABAJO DE INVESTIGACION
"METABOLITOS TOXICOS DEL OXIGENO
PAPEL FISIOPATOLOGICO EN EL PACIENTE SEPTICO"
COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL TITULO
DE LA ESPECIALIDAD
MEDICINA DEL ENFERMO EN ESTADO CRITICO
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ASESOR: Dr. JOSE MANUEL PORTELA ORTIZ

Atte: Dr. José de Jesús Bueno Almanza

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Bueno Almanza", with a horizontal line underneath.

A G R A D E Z C O :

- * AL INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION
Al que le debo todo lo que soy profesionalmente
- * AL DOCTOR SALVADOR ZUBIRAN
Por su brillante ejemplo de tesón, entereza y honestidad
- * A MIS MAESTROS Y COMPAÑEROS
Dr. Javier Ramírez Acosta, Dr. Guillermo Castorena A.
Dr. José Manuel Portela O., Dr. Gustavo Lugo.
Por su apoyo, ejemplo, paciencia y conocimientos.
- * A MIS AMIGOS, COMPAÑEROS y en su momento, colaboradores
y Maestros invaluablees
Dr. Píndaro Martínez O., Dra. Carolina Laredo S.,
Dr. Alfonso Ramírez G., Dr. Guillermo Domínguez Ch.,
Dr. Octavio González Ch.
- * A MI FAMILIA,
Especialmente a mis padres
Y Esposa, Isabel, por haber estado durante los momentos
difíciles de entonces, y permanecer ahí ahora.

Dr. J. de Jesús Bueno A.

I N D I C E

METABOLITOS TOXICOS DEL OXIGENO

INTRODUCCION Y SEMBLANZA DEL PROBLEMA	1
GENERALIDADES	7
OXIGENO, PARADOJA BIOLOGICA	9
QUIMICA	11
TIPOS, ORIGENES E INTERACCIONES	15
FUENTES PRINCIPALES	23
FUENTES MENORES	29
ALTERACIONES MOLECULARES MEDIADAS POR OXI-RADICALES	32
DETECCION DE METABOLITOS TOXICOS DEL OXIGENO	35
LESION CELULAR MEDIADA POR OXI-METABOLITOS	40
ANTIOXIDANTES ENDOGENOS Y TERAPIA ANTIOXIDANTE	44
OXI-METABOLITOS Y PATOLOGIA	52
CONCLUSIONES	57

METABOLITOS TOXICOS DEL OXIGENO

PAPEL FISIOPATOLOGICO EN EL PACIENTE SEPTICO

INTRODUCCION Y SEMBLANZA DEL PROBLEMA

La Sepsis con su muy amplio significado, representa una entidad única, y de fisiopatología muy compleja e interesante. El avance en este campo en los últimos años ha abierto perspectivas importantes de manejo, ampliando considerablemente las posibilidades terapéuticas. Estos hechos enfatizan sin lugar a dudas, la necesidad de una mejor comprensión, por parte del Médico en general, y del Intensivista en particular, de los eventos fisiopatológicos implicados en el paciente séptico y críticamente enfermo.

En forma tradicional hemos entendido la sepsis como un evento producido por la interacción de un agente agresor o infectante y un huésped. Es necesaria la participación de estas dos partes, ya que el agente infectante funciona como un inductor, pero es imprescindible que el huésped monte una respuesta que en sí produce las manifestaciones propias del cuadro séptico. Esta respuesta del huésped comprende en especial manifestaciones en áreas como: Cardiovascular, Inmune, Metabólica y Neuro-endocrina, manifestaciones que, en sí, y una vez plenamente desarrolladas, dominan el cuadro y producen la mayoría de las manifestaciones clínicas típicas del paciente séptico grave.

En este contexto, entonces, se ha intentado distinguir, para fines didácticos y de comprensión, entre el inductor, en un extremo, y el efector en el otro, haciendo referencia al agente infectante y a las manifestaciones que monta el huésped respectivamente. Por otra parte, más recientemente, ha quedado claro que, en otras circunstancias, es decir, sin infección demostrable, puede existir una respuesta idéntica pero disparada por un inductor distinto, a saber, en ausencia de infección, un proceso inflamatorio de suficiente intensidad puede desencadenar una respuesta similar en el huésped, encontrando también características clínicas indistinguibles de aquellas presentes en el paciente séptico propiamente

dicho. Esto ocurre en circunstancias tales como quemaduras graves, politrauma severo, o procesos inflamatorios como Pancreatitis aguda. Es por esto que forma relativamente reciente, se ha enfatizado la necesidad de distinguir entre Choque séptico cuando estas manifestaciones son producidas por infección y una entidad denominada Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica, cuando un proceso inflamatorio -no séptico-, es el inductor del cuadro. Cabe añadir que, así como diferentes estímulos pueden desencadenar esta respuesta, prácticamente indistinguible, podemos considerar que existen diversos grados de severidad de las manifestaciones referidas, y así podríamos subjetivamente considerar, en ambos casos, un espectro que va desde manifestaciones leves, hasta muy graves, en los extremos, con muy diversos puntos intermedios.

Estos hechos hacían sospechar, ya tiempo atrás, que debía existir un eslabón que permitiera concatenar o enlazar ambos componentes, el inductor y el efector. Eslabón que debería ser uno mismo. El mismo ha sido analizado y progresivamente conocido, y en forma genérica ha sido descrito como una serie de sustancias, cascadas y eventos biológicos, que en conjunto se denominan "mediadores". La complejidad de este eslabón es tal que hasta el momento aún se considera como un área en rápida expansión, al que continuamente se agregan nuevos conceptos.

En este eslabón se han descrito entonces toda una serie de sustancias de gran importancia fisiopatológica, y cuya activación es en cierta forma inespecífica o estereotipada, aunque al mismo tiempo graduada. Esto puede explicar en cierta forma, el poderse desencadenar por diferentes estímulos, pero, una vez desencadenada, sus consecuencias son similares e independientes del estímulo inicial. Debe aceptarse que que esto es desde el punto de vista cualitativo, ya que sí existe una relación entre estímulo y respuesta, debido a que cuantitativamente, la respuesta sí depende de la intensidad del estímulo, en forma directamente proporcional, lo que significa que se trata de un evento graduable.

Además de ser inespecífica y graduable, existe un tercer componente en esta respuesta, y que habla de la posibilidad de "sumación" de estímulos como un componente importante de la respuesta y su gravedad: aunque, en algunas circunstancias un paciente que desarrolla choque séptico o síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, que lleva hasta Falla Orgánica Múltiple puede tener su origen en un evento único, lo usual es que existan toda una serie de eventos de intensidad menor, incluso algunos de ellos no reconocibles con facilidad que no obstante, al sumarse, llevan a la sobreactivación de los mediadores implicados y por lo tanto a la respuesta inflamatoria. Este concepto se usa para describir un fenómeno biológico en el cual un insulto inicial determinado "precarga" o predispone al huésped de manera que insulto(s) subsecuente(s) hacen que la respuesta del mismo sea grandemente amplificadas.

Entre otras circunstancias, la comprensión de estos conceptos permite explicar la inespecificidad de la respuesta, los diversos grados de severidad observados, resultando más fácilmente comprensible el gran espectro de manifestaciones y de gravedad del paciente críticamente enfermo y la forma en que diversos estímulos pueden generar estas respuestas.

En todo este contexto, y situándonos en el eslabón intermedio o "mediadores", se pueden destacar la importancia fisiopatológica de diversos componentes:

- * Citocinas.
- * Microcirculación.
- * Intestino como inductor, fuente de mediadores y preservador o agravador de la respuesta.

Los mediadores propiamente dichos, comprenden más de cien compuestos producidos por la activación de diversos componentes biológicos, su número se amplía frecuentemente, ante la descripción de algunos previamente no descritos, sin embargo, algunos son considerados clave por su capacidad para inducir o mantener las manifestaciones clínicas de la sepsis o por

su potencial de producir daño.

A este grupo de mediadores se les conoce con el nombre genérico de "citocinas". Si bien su número es creciente, ahora se reconoce la importancia relativa de unas con respecto a otras. En algún momento se denominó monocinas a aquellas formadas por macrófagos, pero, en términos generales se hace ahora más bien referencia al término citocinas por ser más genérico. Esto también probablemente tenga relación con la gran complejidad de este sistema micro-humoral, reconociéndose actualmente fuentes cada vez más variadas de estas sustancias. Continúan siendo identificados los macrófagos y los linfocitos como las fuentes principales de estas citocinas, pero algunas que reúnen las características para considerarlas como tales, son producidas por células muy variadas, incluyendo neutrófilos, células endoteliales y plaquetas, como es el caso del factor activador plaquetario (PAF).

Estas verdaderas micro-hormonas son responsable de la mayor parte de los efectos sistémicos característicos del estado séptico, al inducir cambios hemodinámicos, metabólicos, hepáticos, etc.; algunos signos como la hipertermia; efectos en el sistema inmune, como reclutamiento y proliferación celular; producción de otras citocinas, quimiotaxis, etc. De los primeros efectos mencionados, algunos son producidos en forma directa, mientras que otros son secundarios a la estimulación del sistema neuro-endocrino. A pesar del gran número de mediadores descritos, son considerados como más relevantes Interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6), factor activador de plaquetas (PAF), Interleucina 8 (IL-8), y muy especialmente, Factor de Necrosis Tumoral (TNF).

Es probable que a la luz de la información actual se puedan establecer tres niveles de importancia en la respuesta micro-humoral, tanto por la trascendencia de los efectos, como por la secuencia de activación: TNF en el primer nivel; IL-1 y 6 en el segundo, IL-8 y PAF en el tercero.

Existen otros sistemas activados en respuesta a la infección grave, y que involucran otras cascadas con efectos específicos, sobresaliendo los derivados del ácido araquidónico, la cascada de coagulación, sistemas de complemento y cininas, sistema fibrinolítico y el óxido nítrico. Estos otros sistemas están involucrados en efectos más específicos, como vasodilatación/vasoconstricción o permeabilidad vascular. La activación de la cascada de coagulación puede participar en la producción de microtrombos, trastornos microcirculatorios e incluso Coagulación Vascular Diseminada.

Todos los mediadores y sistemas mencionados se activan en forma orquestada e íntimamente inter-relacionada, teniendo como objetivo primordial colaborar en montar una respuesta concertada encaminada por una parte a defender al huésped del proceso infeccioso, y por otra parte, proporcionar condiciones óptimas de funcionamiento cardiovascular, metabólico, etc. que permitan sostener o llevar las variables fisiológicas a rangos de funcionamiento adecuado para enfrentar la situación de emergencia que implica una patología grave (p. ej. optimizar el aporte de oxígeno para hacer frente a un consumo aumentado). Así, se pueden considerar como benéficas o fisiológicas las respuestas inducidas.

Sin embargo, si el proceso séptico (o inflamatorio) es muy intenso o prolongado, esta respuesta puede incrementarse en forma considerable, e incluso, salir de control, produciéndose entonces un estado de "sobreactivación", y acelerar o favorecer la aparición de fallas orgánicas únicas, falla orgánica múltiple e incluso la muerte.

Dentro de todos estos mediadores se encuentran los Metabolitos Tóxicos del Oxígeno. Mediadores en conjunto muy especiales, pero que también son generados como una respuesta de defensa del huésped, pero, al producirse en cantidades mayores de lo deseable, o bien en sitios específicos, pueden producir un daño molecular o celular severo. En este sentido,

podría existir controversia acerca de considerarlos como mediadores proplamente dichos, o bien verdaderos efectores de daño.

Los MTO2 tienen un papel muy especial ya que pueden ser producidos en forma ubicua, por múltiples vías o componentes tanto celulares como enzimáticos y así, jugar un papel clave como un mediador humoral más, o participar junto con los trastornos microcirculatorios en la génesis de daño difuso. Debe resaltarse que, en cierta forma, su papel ha sido relativamente soslayado, en beneficio de otros mediadores más reconocidos, pero juegan un papel clave en la fisiopatología global de este tipo de problemas. El estar relativamente soslayados al no integrarlos con frecuencia al conjunto de mediadores clave, ha motivado esta revisión, enfatizando el papel que tienen en el daño que se produce en el paciente grave y que puede llevar a un desenlace fatal.

METABOLITOS TOXICOS DEL OXIGENO GENERALIDADES

La existencia de metabolitos del oxígeno con efectos tóxicos es conocida desde hace más de 60 años, sin embargo, el gran potencial tóxico para las moléculas biológicas hicieron considerar como imposible el que estos metabolitos se formaran en los sistemas vivos conocidos, por lo que durante años su estudio quedó confinado al terreno de la Química. La descripción de la función enzimática de la Superóxido dismutasa por McCord y Fridovich en 1969, planteó la cuestión de que el radical superóxido podría eventualmente formarse en los seres vivientes, dado que dicho radical constituía el sustrato para la enzima recientemente descrita, y amplió por primera vez el campo de discusión de los oximetabolitos a la Bioquímica, la Biología y la Fisiopatología. Desde entonces, el tema ha generado en forma progresiva, controversia, interés, y, más recientemente conocimiento y comprensión crecientes.

Fue inicialmente tal la incredulidad de que moléculas tan tóxicas pudieran formarse en los seres vivos que hubo incluso autoridades que sugirieron la posibilidad de que la presencia de Superóxido dismutasa (SOD) en los seres vivos, podría ser solo un vestigio filogenético. Debido a que esta enzima cataliza la destrucción o eliminación del radical superóxido, el interés se centró en éste último. Debido a que el radical superóxido resulta de la reducción uni-electrónica del oxígeno molecular, una posibilidad que resultaba obvia era que este radical podría formarse en los seres vivos como una consecuencia casual o inevitable de utilizar oxígeno como un aceptor terminal de electrones. En este contexto y si esta suposición resultara cierta, entonces todos los organismos aeróbicos debían necesitar la enzima referida con fines estrictamente protectores. Esto

no sería esperable para los organismos estrictamente aneróbicos. Investigaciones subsecuentes llevaron a soportar estas teorías y la aseveración de que la presencia de SOD era entonces una necesidad absoluta para los organismos que utilizan el oxígeno como parte importante de su metabolismo energético. Estudios más recientes con organismos anaeróbicos pero también capaces de metabolismo aeróbico, demostraron que si cepas de E. coli son deprivadas de su código genético que se encarga de codificar la información que lleva a la síntesis de SOD, estos organismos no pueden sobrevivir en medios con oxígeno en concentraciones mínimas, condiciones en que todas sus vías metabólicas son activadas, incluyendo la utilización de oxígeno, sobreviniendo la muerte por auto-daño oxidativo. Esta misma cepa, así tratada, sobrevive adecuadamente en medio estrictamente anaeróbico. A partir de este punto, el conocimiento del papel de los metabolitos tóxicos del oxígeno en la salud y la enfermedad ha crecido en forma importante.

METABOLITOS TOXICOS DEL OXIGENO
OXIGENO: PARADOJA BIOLOGICA

Puede parecer muy contradictoria la aseveración de que un elemento tan necesario para la vida pueda, a su vez, ser potencialmente tóxico para los seres vivos. Sin embargo, esto es más sencillo de comprender si acudimos a las características propias del oxígeno. Por una parte, tiene una gran capacidad para adquirir o aceptar electrones, lo cual, de hecho, lo convierten en el elemento ideal para este fin dentro de la serie de cadenas metabólicas que generan energía a los seres vivos, gracias precisamente a flujos y movimientos de electrones. Esta capacidad de aceptar electrones es debido a la presencia de órbitas con electrones no pareados, lo que lo define como un radical -de hecho, un birradical-. Esta característica lo hace ser un elemento altamente inestable y con capacidad de reaccionar con una serie de moléculas a las cuales oxida, obteniendo electrones para convertirse finalmente en un compuesto no reactivo e inocuo, como lo es el agua. En su forma conocida, de oxígeno molecular O_2 , éste elemento es capaz de "acomodar" cuatro electrones en total, sin embargo, estos no pueden ser adquiridos de forma simultánea, sino que este proceso debe ser efectuado secuencialmente, formando en cada paso, metabolitos intermedios que mantienen entonces electrones no pareados, que son por esto potencialmente reactivos y capaces de causar daño. Esta característica del oxígeno para aceptar electrones, de hecho lo hace utilizable como se menciona, en las vías de transporte electrónico y generación energética, así como para producir daño en blancos específicos, y en forma controlada, p. ej. la pared de una bacteria, de tal manera que se confirma un potencial tóxico al tiempo que un efecto benéfico.

Desde la descripción de la Superóxido dismutasa, en 1968, los metabolitos tóxicos derivados del oxígeno han sido implicados en una amplia variedad de procesos tanto fisiológicos como patológicos, variando desde la acción bactericida de los neutrófilos, hasta la lesión por reperusión. Aún cuando el papel de estos metabolitos en isepsis.

síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y falla orgánica múltiple está lejos de quedar perfectamente definido, los hechos sugieren que, debido a sus características y la forma de activación, éstos pueden jugar un papel definitivo en la patogénesis de estos síndromes. Existe evidencia suficiente de que estos elementos se forman en circunstancias específicas, que se presenta consumo de antioxidantes endógenos o naturales, que se forman como consecuencia productos de la reacción de radicales tóxicos con moléculas biológicas importantes (como enzimas, componentes de pared celular, proteínas, etc), y el manejo, modulación o inhibición de el daño oxidativo, puede ser útil en la terapéutica de estos pacientes en circunstancias específicas (p. ej. isquemia-reperusión).

El conocimiento de la fisiopatología de estas entidades, las múltiples interacciones de los diversos sistemas biológicos implicados, el daño potencial por la sobreactivación de los mismos, y la posibilidad de tratar y así prevenir o disminuir el daño causado por esta sobreactivación, abre nuevas e importantes perspectivas de tratamiento del paciente en estado crítico, y subraya definitivamente la necesidad de conocer a fondo estos sistemas biológicos.

METABOLITOS TOXICOS DEL OXIGENO QUIMICA

Los átomos y las moléculas contienen en sus órbitas habitualmente electrones pareados, lo que les confiere estabilidad. Cuando una molécula determinada contiene en su última órbita un electrón único o no pareado, se denomina Radical. Esta característica le confiere inestabilidad a los radicales, y por lo tanto, potencial para reaccionar con otros átomos o moléculas, en un intento por adquirir uno o varios electrones, según su déficit, formando moléculas menos reactivas o estables. Esta reacción por la cual un elemento adquiere un electrón, se denomina reducción, mientras que la molécula a la que se le retira, ha quedado oxidada. Este último término es derivado del oxígeno, y se debe precisamente al gran potencial que tiene este elemento para oxidar (o retirar electrones) de otras moléculas. El oxígeno molecular, de hecho, como lo conocemos, O_2 , contiene cada uno dos electrones no pareados. En esta configuración, no obstante, estos dos electrones se encuentran en órbitas idénticas en su giro ("spin"). La probabilidad de que el oxígeno molecular encuentre una molécula que le done en forma simultánea dos electrones de giro idéntico, hace muy improbable que, en condiciones normales, el oxígeno molecular reaccione (como sería su tendencia), adquiriendo dos electrones simultáneamente. Esta distribución -llamémosle poco convencional- de electrones no pareados, impone una gran barrera para la dismutación espontánea del oxígeno. A la frecuencia colisional habitual, entre átomos, propia del movimiento molecular intrínseco, el período de contacto entre dos elementos es tan breve, que existe una segunda barrera, llamada cinética, para que ocurra una reacción oxidativa espontánea. Estos dos hechos impiden al oxígeno reaccionar en forma inmediata, incluso explosiva, como lo indicaría su propia naturaleza, dada la existencia a su alrededor de una atmósfera con tan gran potencial termodinámico. Puede suponerse el daño de esta reacción masiva a los seres vivos que contienen oxígeno.

Sin embargo, por estas mismas características, el oxígeno es un aceptor terminal de electrones. Los sistemas biológicos solo han tenido que implementar los mecanismos o proporcionar las condiciones óptimas para que esta reducción (o acepción) de electrones por el oxígeno ocurra. Algunas enzimas han desarrollado un sitio de unión para el oxígeno pudiendo así mantenerlo en contacto con su reductor (o donador electrónico), venciendo la barrera cinética, al prolongar este tiempo y favoreciéndose a su vez de las grandes cantidades de energía que pueden ser derivadas de este movimiento de electrones. Dada la existencia de dos electrones no pareados, en su forma molecular $-O_2-$, el oxígeno tiene el potencial de aceptar cuatro electrones antes de adquirir un estado de total equilibrio. Una vez reducido por completo con cuatro electrones, se rompen los enlaces que mantenían unidos los dos núcleos de oxígeno, de tal forma que estos se separan, adquiriendo simultáneamente protones (Hidrogeniones), del solvente que los rodea, con formación de dos moléculas de agua, como un metabolito final, inerte e inocuo, de la reducción tetravalente del oxígeno. En condiciones ideales, el oxígeno es reducido en pasos controlados, sucesivos, sin formación de radicales intermedios, producto de reducciones incompletas (es decir, con uno, dos o tres electrones). Sin embargo, en ciertas condiciones, la reducción del oxígeno molecular puede resultar precisamente incompleta, bien por una fuga electrónica en los sistemas enzimáticos de "acarreo" de electrones (p. ej. citocromos), bien por la interrupción de las vías de entrega electrónica en las mitocondrias por condiciones patológicas (p. ej. hipoxia mitocondrial), condiciones que reducen las vías enzimáticas en sí, cortando la reacción en diversos puntos; la reducción puede ser también incompleta por la característica innata de "robar" electrones por parte del oxígeno (oxidar otras moléculas), lo que tiene que darse en "robos" de un electrón a la vez. Así, la reducción uni-electrónica del oxígeno da lugar al radical superóxido; la reducción di-electrónica produce una molécula de peróxido de hidrógeno; por una reacción

de "acarreo" electrónico en la que participa un ion Ferroso (Fe^{+++}/Fe^{++}), se puede transferir un electrón más a la molécula de peróxido de hidrógeno, hecho que resulta en una lisis de la unión O-O, dando lugar a dos fragmentos, uno que se reduce hasta formar agua, el otro que es el radical hidroxilo propiamente, resultado entonces de la reducción tri-valente (por tres electrones), del oxígeno molecular. Si el hidroxilo adquiere otro electrón y se protona simultáneamente, se forma agua, esto es, el producto final de la reducción completa, tetra-valente, o con cuatro electrones, del oxígeno molecular, dando un metabolito inerte e inocuo.

Los mencionados no son todos los metabolitos potenciales derivados del oxígeno, ya que a partir de algunos de estos compuestos, se pueden producir reacciones con otro tipo de átomos o moléculas, formando metabolitos que me atrevería a llamar "secundarios" (aunque el término no está acuñado), llamando entonces "primarios" a los ya descritos, o derivados directos. Así, p. ej., se puede formar ácidos hipo-halurosos, al reaccionar peróxido de hidrógeno con Cl, I y Br, formando ácidos hipocloroso, hipoyodoso e hipobromoso, respectivamente. Existen otros metabolitos "secundarios" que se mencionarán en su momento.

En este punto se debe mencionar que existe una eventualidad que se debe analizar: si alguna fuerza externa, química, física o térmica tiene suficiente intensidad y afecta a una molécula de oxígeno, uno de sus electrones no apareados puede ser desplazado a una órbita superior, causando además una inversión del giro electrónico, formando un metabolito muy especial, llamado "singlete" o "singulente". El cambio de órbita genera energía, que habitualmente se disipa como emisión de luz, con producción de calor o como una reacción química, pudiendo producirse lesión. En condiciones propias de los seres vivos, este radical es poco considerado, ya que su formación es prácticamente imposible en las condiciones de los sistemas biológicos.

Cabe aclarar también en este punto, la terminología utilizada.

La mayor parte de los interesados en el tema, llaman a estos metabolitos "Radicales libres de oxígeno", término que se encuentra difundido, y probablemente por facilidad. Sin embargo, como ya fue referido, un radical es un átomo o molécula que contiene en su órbita más exterior un electrón no apareado. Esto habitualmente le confiere una carga eléctrica no compensada, sin embargo, algunas de estas moléculas tóxicas, se encuentran eléctricamente estables, por lo que no pueden ser denominadas en terminología química correcta, como "radicales". y que no obstante, son derivados del oxígeno y con potencial tóxico bien aceptado. Tal es el caso del peróxido de hidrógeno H_2O_2 , y de los ácidos hipo-halurosos por utilizar solo dos compuestos a los que ya nos hemos referido. Dado entonces que al conjunto de compuestos derivados del oxígeno no se les puede denominar radicales (aunque a algunos de ellos es correcto aplicarles el término), se prefiere, cuando se hace referencia genérica a toda esta serie de compuestos, utilizar el término "Metabolitos tóxicos derivados del oxígeno", ya que "radicales" discrimina a algunas de las moléculas reconocidas y pertenecientes al grupo.

**METABOLITOS TOXICOS DEL OXIGENO
TIPOS. ORIGENES, INTERACCIONES**

Radical Anión Superóxido.

La reducción univalente del oxígeno produce el anión Superóxido (O_2^-). Esto equivale a la adquisición de un electrón por el oxígeno molecular. Es un radical relativamente débil, en cuanto a toxicidad se refiere, con vida media corta, que en forma espontánea puede adquirir un protón y dismutar a peróxido de hidrógeno y oxígeno

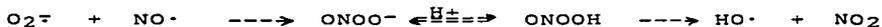


La toxicidad del superóxido no está tanto relacionada con su potencia, sino más bien es dependiente de la especificidad de sus blancos potenciales y como precursor de otros metabolitos. Inactiva directamente varios compuestos y enzimas clave, tales como gliceraldehído-3-fosfato-deshidrogenasa, catalasa, glutatión-peroxidasa y otras. Es un fuerte reductor y como tal puede donar electrones con facilidad. Esto es importante ya que por este medio puede participar indirectamente en la formación de hidroxilo, al donar electrones a metales solubles tales como Fe, que funciona como "acarreador" electrónico como más tarde se comentará.

Existen varias fuentes potenciales de superóxido. La más importante, es el fenómeno conocido como "estallido respiratorio", fenómeno que ocurre en la membrana del neutrófilo y que posteriormente se analiza. Otra fuente es la cadena mitocondrial de electrones, una tercera fuente la constituyen enzimas intracelulares de tipo oxidasa, formadas a partir de deshidrogenasas, por oxidación o proteólisis incompleta y que, una vez en forma de oxidasa, tienen un potente efecto pro-oxidante. Fuentes menores son la auto-oxidación de compuestos como hidroxiquinonas, epinefrina, tioles, hemoglobina y otros. Otras fuentes potenciales, menos estudiadas e incluso poco comprendidas son enzimáticas: aldehído-oxidasa, deshidrogenasa dehidro-orótica, flavina deshidrogenasa.

La protonación del superóxido da lugar al radical Hidroperoxil ($\text{HOO}\cdot$). Tiene un pK de 4.8, lo que significa que a pH fisiológico (7.4) se encuentra en mayor proporción disociado, existiendo solo aproximadamente un 0.25% como radical hidroperoxil propiamente dicho, sin embargo, en un medio no fisiológico, con pH ácido, como el encontrado en tejidos isquémicos, fagosomas, exudados purulentos o a nivel de las interfases endotelios-fagocito, el pH puede ser cercano al pK aumentando significativamente la proporción de hidroperoxil. El significado biológico de este radical con respecto al superóxido que le da origen es que tiene mayor liposolubilidad y por lo tanto mejor penetración celular, y reactividad también mayor.

Más recientemente se ha comprobado que el radical superóxido puede combinarse con óxido nítrico, dando lugar al radical peroxil-nitrito. Existen células capaces de producir tanto óxido nítrico, como superóxido, lo que facilita la reacción, ya que de otra manera, la vida corta de ambos y la reactividad del superóxido, impondría una limitante de difusión. Estas células son las endoteliales, más importantemente macrófagos y neutrófilos. El radical peroxil-nitrito está en equilibrio con una molécula protonada del mismo, lo que lo convierte en un ácido, el ácido peroxinitroso; esta reacción puede moverse hacia ambos extremos, descomponiéndose en dióxido de nitrógeno y una especie hidroxil tipo radical. Es probable que la importancia biológica de estas reacciones consista en la capacidad del superóxido de reaccionar y por lo tanto neutralizar al óxido nítrico. El peroxil-nitrito es un anión con fuerte efecto oxidante, cuyo potencial tóxico se ve incrementado por su vida media larga.



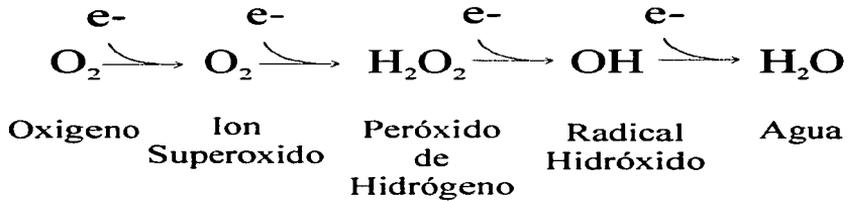
Peróxido de Hidrógeno.

La reducción di-electrónica del oxígeno, resulta en el compuesto (no radical) peróxido de hidrógeno: H_2O_2 . También puede definirse su origen como la dismutación por dos electrones del oxígeno o la dismutación del anión superóxido. Es un oxidante relativamente lento, con una vida media larga, y liposoluble. Su importancia radica en ser precursor de muchos otros compuestos, y las mencionadas vida media larga y liposolubilidad, que le permite atravesar las membranas celulares con facilidad, características que le permiten incluso detectarse en lugares distantes al sitio de su formación, pudiendo incluso recuperarse en el aire espirado. La mayor parte de los demás metabolitos son diferentes en este sentido, ya que se consumen localmente, en el sitio de formación. Puede reaccionar con halogenados, formando ácidos hipo-halurosos, tales como el ácido hipocloroso. Estos ácidos a su vez pueden reaccionar con aminos, formando compuestos cloro-aminados, compuestos que pueden a su vez tener efectos tóxicos oxidativos. El peróxido de hidrógeno también es precursor de hidroxilo, aunque para la formación de este se requiere de la participación de un metal.

Hay varias fuentes potenciales de peróxido de hidrógeno, una de las más importantes es nuevamente la cadena mitocondrial de electrones. También puede ser generado por enzimas intracelulares, que habitualmente se encuentran en organelos como peroxisomas y mitocondrias: monoamino-oxidasas, glicolato, hidroxiaácidos, diaminas, piridoxaminas. Finalmente, la xantina-oxidasa, aunque principalmente de localización citosólica, puede producir directamente peróxido de hidrógeno.

REDUCCION COMPLETA DEL OXIGENO MOLECULAR

La entrega de cuatro electrones en pasos sucesivos lleva a la reducción completa del Oxígeno molecular, culminando con un metabolito final, inocuo, el Agua. En los pasos intermedios se pueden generar Metabolitos Tóxicos del Oxígeno.



Radical Hidroxilo.

El radical hidroxilo, dentro de la cadena de reducciones sucesivas del oxígeno molecular, representa el producto de la reducción tri-electrónica del mismo. Su precursor inmediato es el peróxido de hidrógeno, a partir del cual se forma. Sin embargo, dicha formación no es "directa", sino que depende de la participación de un metal, habitualmente Hierro (Fe), o menos frecuentemente Cobre (Cu), en su forma libre, y que funciona como un "acarreador" de electrones. El Hierro habitualmente se encuentra unido a moléculas tipo prótidos, p. ej. ferritina, en su forma férrica (Fe+++); al aceptar un electrón, se reduce, convirtiéndose en el ion Ferroso (Fe++), el cual queda libre y reactivo. Como se había mencionado previamente, el ion superóxido es un fuerte reductor y puede donar el electrón que hace posible la "liberación" del Hierro, convirtiéndolo a su forma ferrosa, que acarrea así el electrón necesario para permitir que el peróxido de hidrógeno se separe formando el radical Hidroxilo. Cabe resaltar que algunos tejidos son ricos en Hierro, el ejemplo más importante es el Sistema Nervioso Central, lo que puede explicar en parte, la susceptibilidad de este tejido al daño por radicales libres de oxígeno, en circunstancias como hiperoxia o isquemia/reperfusión. Muchas bacterias también se encuentran saturadas de Hierro, lo cual es utilizado por los neutrófilos para, en un medio específico (el interior de los lisosomas), vaciar peróxido de Hidrógeno, que por su liposolubilidad puede penetrar fácilmente la membrana de las bacterias, y, una vez en el interior, y con abundancia de He, generar Hidroxilo en altas cantidades. La presencia de Hierro puede entonces, magnificar la producción de Hidroxilo, un metabolito muy tóxico, a partir de uno menos tóxico, el peróxido de Hidrógeno, a su vez más "manejable" por los sistemas biológicos.

Se conoce como reacción de Fenton catalizada por metales, o reacción de Haber-Weiss, a esta reacción que utiliza un metal para "acarrear" electrones y favorecer la formación de Hidroxilo. Prefiero utilizar este término aunque no

acuñado, al de "catalizar" ya que no es estrictamente una reacción catalizada, que solo implica una facilitación o aceleramiento de un proceso que de cualquier manera podría ocurrir aunque más lentamente. Las implicaciones de esta combinación de reacciones, en conjunto con las características del Hidroxilo, son clave en su toxicidad, ya que, como se ha mencionado, su formación es altamente específica o dirigida al sitio, p. ej. en el caso mencionado de las bacterias con alto contenido de Hierro. Vale la pena recordar que algunas cadenas de DNA se encuentran asociadas a Hierro, lo que las hace un blanco oxidativo más atractivo para el Hidroxilo. Como un dato interesante, los eritrocitos de pacientes con anemia de células falciformes producen más hidroxilo que los eritrocitos no portadores de este rasgo, lo que bien pudiera estar implicado en la patogénesis del SIRPA que se produce cuando estos pacientes ascienden a grandes alturas (montañismo), sufriendo un cambio estereocópico en la Hemoglobina con cambios morfológicos subsecuentes en los eritrocitos, quedando éstos atrapados en la microcirculación pulmonar. A pesar de haberse extendido más de lo deseable, este apartado enfatiza las múltiples implicaciones fisiopatológicas potenciales de los oxi-metabolitos.

Recientemente se ha sugerido que, en el curso de la reacción de Haber-Weiss-Fenton, se puede formar un complejo dióxígeno-Fe, y que éste complejo por sí mismo puede ser un verdadero agente de daño oxidativo, que se puede sumar, o incluso superar al producido por el Hidroxilo.

El Hidroxilo es un radical extremadamente reactivo, de vida media cortísima, aproximadamente 1 nanosegundo. Se estima que, del sitio de formación al sitio en que reacciona existe a lo sumo una distancia de 4 o 5 diámetros moleculares del propio hidroxilo. Con esto, su tasa de reactividad es limitada principalmente por un fenómeno de difusión. También se puede inferir por estos conceptos, que la formación de Hidroxilo es altamente intencionada o dirigida.

R.HABER-WEISS-O2-FENTON



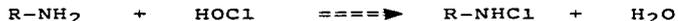
El Hierro debe aceptar un electrón para liberarse de sus sitios de unión a Ferritina, y pasar a la forma Ferrosa (Fe²⁺), que "acarrea" dicho electrón y lo entrega al peróxido de Hidrógeno formando Hidroxilo. Las reacciones efectuadas se esquematizan por encima de la línea, la reacción resultante por debajo de la misma.

Acidos Hipo-halurosos y Cloro-aminas.

Ya había mencionado anteriormente que existen metabolitos "primarios" o derivados directamente del oxígeno, y "secundarios", o producidos a su vez por metabolitos derivados. Estos términos no se encuentran así acuñados. Se mencionó también cómo el peróxido de Hidrógeno, relativamente poco tóxico, tiene una de sus características importantes en el ser precursor de otros metabolitos, como el hidroxilo. El peróxido de Hidrógeno puede reaccionar con haluros formando ácidos hipo-halurosos:



Se menciona habitualmente al ácido hipocloroso, por la gran disponibilidad de cloro en los líquidos corporales, sin embargo, la reacción puede llevarse a cabo también con Iodo (I) o Bromo (Br), formando, respectivamente, ácidos Hipiodoso o Hipobromoso. Estos con compuestos extremadamente oxidantes y reactivos, su potencial puede imaginarse si consideramos los efectos bien conocidos en cualquier superficie al contacto con ácido hipocloroso o su derivado hipoclorito de sodio, conocido comúnmente como blanqueador casero. De los tres mencionados, el ácido hipobromoso es el más tóxico, mientras que el hipocloroso es el menos tóxico. En los seres vivos se requiere de la presencia de peroxidasas para catalizar esta reacción, como la mieloperoxidasa de eosinófilos y neutrófilos. La mayor parte de estos compuestos es consumida in situ prácticamente en forma inmediata, pero una cierta proporción puede reaccionar con aminas de bajo peso molecular, formando compuestos N-cloro-aminados (cloroaminas):



En realidad este tipo de compuestos son varios, muchos de ellos con un potencial tóxico relativamente bajo, sin embargo, algunos otros son notablemente dañinos, tales como las monocloroaminas, y son capaces de dañar tanto los fagocitos como las partículas fagocitadas. La vida media de todos ellos es larga. A pesar de no estar completamente dilucidado, algunas moléculas intracelulares puede reaccionar con éstos compuestos, protegiendo las células (p.ej taurina).

Peróxidos Orgánicos.

Los metabolitos tóxicos derivados del oxígeno, pueden atacar prácticamente cualquier molécula biológica. Sin embargo, uno de los compuestos orgánicos más frecuentemente atacados por el daño oxidativo, son los ácidos grasos poli-insaturados (PUFAs), parte importante del núcleo lipídico de la membrana celular. La interacción de un radical libre de oxígeno con tales moléculas, es capaz de iniciar una reacción denominada peroxidación lipídica, reacción en la que se generan radicales peroxilípidos, que por sí mismos, son verdaderos radicales, inestables y capaces de atacar un ácido graso vecino. Para los fines de este apartado, baste decir que existen radicales peroxilípidos e hidroperoxilípidos, formados por este mecanismo, y con toxicidad intrínseca, que representa un mecanismo más de daño, con amplificación del efecto tóxico inicial de los radicales libres de oxígeno, propiamente dichos. Los radicales Hidroxilo y compuestos $Fe-O_2$, parecen ser los más frecuentes e importantes iniciadores de esta reacción.

**RADICALES LIBRES Y
METABOLITOS TOXICOS DEL OXIGENO**

Radicales libres	
Radicales con O2 como centro:	
Oxígeno molecular	
Triplete	3O2
Singlete o singulete	1O2
Radical Superóxido	O2 ⁻
Radical Hidroxilo	OH [·]
Radical Alkoxi	RO [·]
Radical Peroxil	ROO [·]
Centro de Carbono	
Radicales lípidos	L [·]
Centro de sulfuro	R-S [·]
Centro de Hidrógeno	
Atomo de Hidrógeno	H [·]
Metales de transición. Iones	
Cobre	Cu ⁺ /Cu ⁺⁺
Hierro	Fe ⁺⁺ /Fe ⁺⁺⁺
Otros metabolitos tóxicos	
Ozono	O3
Hidroperóxidos	
Peróxido de Hidrógeno	H2O2
Peróxidos lípidos	LOOH
Acido Hipocloroso	HOCl
Cloroaminas	R'RNCl

METABOLITOS TOXICOS DEL OXIGENO FUENTES PRINCIPALES

Existen múltiples fuentes potenciales generadoras de Metabolitos tóxicos derivados del oxígeno, algunas incluso no bien comprendidas. Sin embargo, por la proporción numérica de metabolitos que pueden generar, hay cuatro fuentes de importancia mayor: la cadena mitocondrial de electrones, la vía de la Xantina-oxidasa, el metabolismo de los eicosanoides y el fenómeno de "Estallido respiratorio".

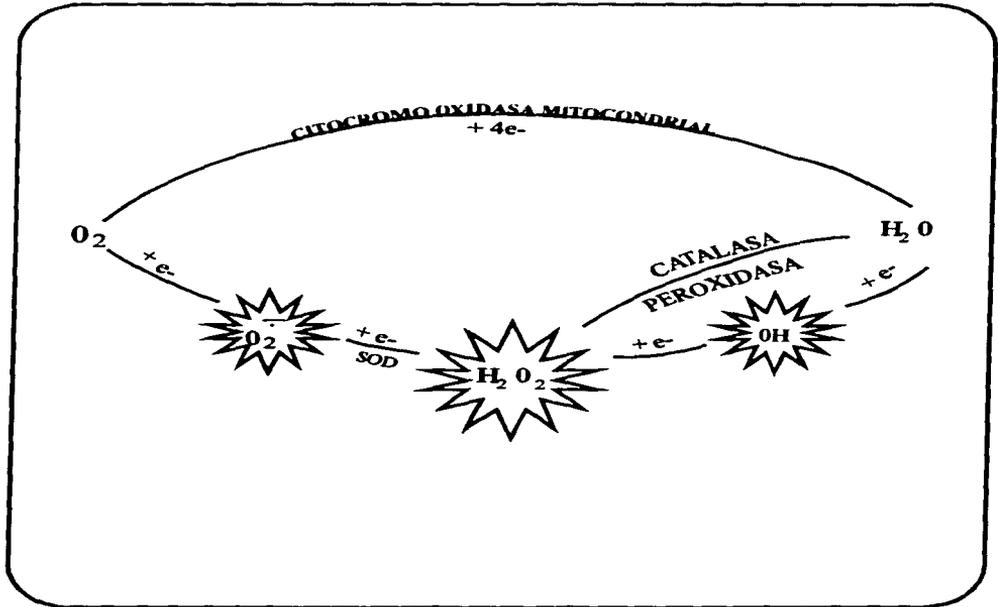
CADENA MITOCONDRIAL DE ELECTRONES

Esta vía comprende una serie de enzimas secuenciales que tienen como lugar físico la mitocondria, y en las que se llevan a cabo una serie de reacciones en cadena, características del metabolismo aeróbico de sustratos. De hecho, esta serie de reacciones son las que nos definen como entes aeróbicos.

En esta serie de sistemas, se transportan electrones, utilizando al oxígeno como aceptor final de los mismos, de tal manera que, iniciando con oxígeno molecular, se le entregan cuatro electrones en total, y, una vez completa la reacción, se llega a un metabolito final, inerte e inocuo, el agua. Se utiliza el oxígeno como aceptor electrónico por sus características intrínsecas, que le permiten aceptar hasta cuatro electrones por molécula, siendo, de hecho, el oxidante por naturaleza (incluso proporcionándole su nombre a la reacción oxidativa). Ya se ha mencionado que la reducción debe llevarse a cabo en pasos secuenciales, aceptando un electrón a la vez, y no dos (como los que requiere estrictamente el oxígeno atómico), debido a la improbabilidad de que, en los sistemas biológicos, se encuentre una molécula donadora de dos electrones de giro idéntico, en dos órbitas distintas. El movimiento electrónico propio de estas reacciones genera energía que es almacenada en compuestos de alta energía (ATP), de donde eventualmente la célula lo puede tomar al así requerirlo. La reacción oxidativa es lenta, y, en las circunstancias normales de contacto físico entre moléculas que ocurre en los seres vivos, habitualmente no

se puede llevar a cabo en forma espontánea, requiriéndose, entonces alguna forma de catalización. Varias enzimas han evolucionado para tener sitios activos con afinidad por el oxígeno, en donde se puede disminuir el tiempo requerido para efectuar la reacción, disminuyendo también la energía de activación requerida para llevar a cabo las oxidaciones sucesivas, catalizando entonces en pasos la reducción tetravalente del oxígeno molecular. Esta reducción se hace, entonces, en forma controlada, por enzimas, las más importantes se denominan oxidasas. Dentro de las enzimas de mayor importancia biológica se encuentran la superóxido dismutasa y la catalasa. El control de la reacción se refiere al hecho de que, en situaciones normales, no deben formarse metabolitos intermedios que puedan fugarse del sistema y producir daño; la reacción se deja de controlar hasta que se completa, obteniéndose el metabolito final, ya inocuo, que es el agua. Sin embargo, en forma casual o bajo ciertas condiciones patológicas, se puede presentar una "fuga" electrónica, presentándose, entonces reducciones en pasos únicos, con entregas uni-electrónicas al oxígeno, produciéndose, así, metabolitos intermedios (o, más bien, liberándose, ya que siempre se forman, bajo control), que pueden causar daño. Se ha estimado que, en condiciones normales, alrededor del 1% del flujo total de electrones manejado por esta cadena puede "fugarse" y producir radicales libres o metabolitos. Se han identificado al menos dos sitios en donde dicha fuga puede ocurrir con mayor probabilidad: el lugar de la Nicotinamida Adenina Dinucleótido Deshidrogenasa (una flavoproteína) o NADH, y en el segmento b de una ubiquinona-citocromo. Condiciones patológicas como acidosis y/o baja tensión de oxígeno, trastornos del aporte del mismo, pueden producir un incremento en la fuga electrónica. Es indudable que la presencia de Superóxido-Dismutasa juega un papel definido, clave y estratégico para controlar dichas fugas. Sin embargo, en

REDUCCION O2 MOLECULAR



condiciones patológicas. la formación de metabolitos intermedios puede ser superior al 1% referido en condiciones normales, y sobrepasar la capacidad de la Superóxido-dismutasa.

METABOLISMO DE LOS EICOSANOIDES

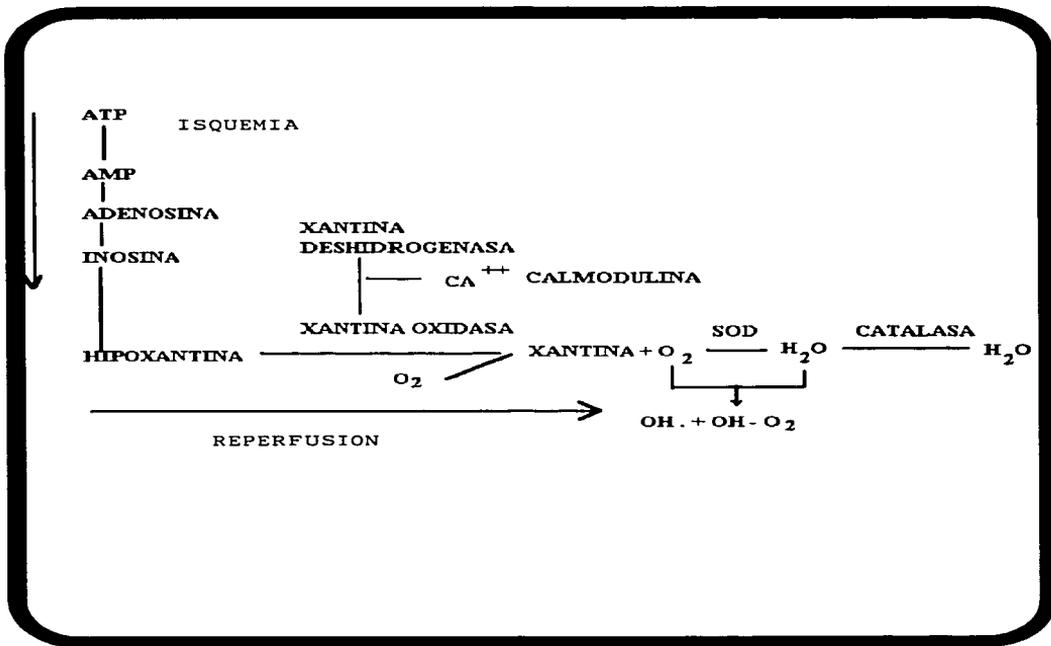
La síntesis de prostaglandinas puede formar radical Superóxido como un metabolito o producto colateral. Los primeros dos pasos en la producción de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico, incluyen la formación de radicales libres intermedios. En presencia de NADH, tanto la porción hidro-peroxidada de la prostaglandina H sintetasa y de la lipo-oxigenasa, participando en la producción de prostaglandina H₂ a partir de la G₂, pueden formar radical superóxido por vías colaterales. La misma activación de endoperoxidasas que se requiere en varios otros sitios del metabolismo de los eicosanoides puede facilitar o catalizar la formación de otros metabolitos, como la formación de ácidos hipo-halurosos mencionados previamente. Cabe resaltar que estas vías se activan por múltiples estímulos, y que incluso los radicales por sí mismos, pueden iniciar dicha activación de la cascada, en un ciclo retroalimentador positivo, facilitando la sobreactivación del sistema en situaciones tales como choque séptico y falla orgánica múltiples.

VIA DE LA XANTINA-OXIDASA

Una fuente importante productora de oxi-metabolitos, y que enfatiza como, si se conjugan las circunstancias apropiadas, pueden generarse radicales libres a partir de sustratos normalmente disponibles con facilidad en las células. Esta vía es muy importante en el contexto clínico conocido como Isquemia/reperfusión. Existe en el citosol un sistema enzimático que en conjunto se denomina xantina óxido-reductasa, comprendido por dos enzimas, la xantina-deshidrogenasa y la xantina-oxidasa. En condiciones normales, la que predomina es la primera, pudiendo convertirse en ésta última por

un proceso reversible de oxidación, o uno irreversible, de proteólisis incompleta o parcial. Ambas tienen como sustrato a la Hipoxantina y la xantina, obteniendo en el proceso un electrón, y diferenciándose las dos enzimas en el destino que le dan a éste. En condiciones de isquemia, la célula, al no tener aporte de oxígeno ni de sustancias energéticas externas, debe hacer uso de la energía almacenada como ATP. Así, se va produciendo escisión de los enlaces preformados, de alta energía, pasando progresivamente de ATP a ADP, AMP, adenosina, inosina y finalmente hipoxantina, obteniéndose energía en cada paso sucesivo, hasta llegar hasta esta última, la hipoxantina, de la que ya no es posible obtener energía, y quedando como metabolito final, y que en la reacción que nos interesa constituye el sustrato. Nótese que, si no hubiese ocurrido isquemia, no existiría este sustrato, hipoxantina en cantidades apreciables. Al agotarse las fuentes energéticas, y en ausencia de aporte, se paralizan una serie de funciones celulares dependientes continuamente de energía. Para fines de la exposición, nos referiremos a la paralización de las bombas iónicas de la membrana celular, dependientes de ATP-asa y que mantienen las concentraciones iónicas adecuadas a ambos lados de la membrana. Al paralizarse, se presentan modificaciones en iones y electrolitos a ambos lados de la membrana celular. Nos interesa en especial considerar que se presente un flujo de Calcio hacia el interior de la célula. Una vez dentro, el calcio activa inespecíficamente enzimas tipo proteasas que se encuentran en el citosol, cabe insistir nuevamente que, de no conjuntarse estas condiciones esta activación enzimática no se efectúa. Estas enzimas, efectúan la proteólisis incompleta, irreversible, de la xantina-deshidrogenasa, convirtiéndola en xantina-oxidasa, de tal forma que ya se conjuntan un sustrato (hipoxantina) y una enzima (xantina-oxidasa), que no deberían estar ahí en otras circunstancias. Si en este momento ocurre reperfusión, llega con ella un flujo de oxígeno. La xantina oxidasa, cataliza

LESION POR ISQUEMIA REPERFUSION



la conversión de hipoxantina a ácido úrico, obteniendo un electrón que entrega al oxígeno, formando superóxido y peróxido de hidrógeno, con la subsecuente cadena de metabolitos ya conocidos. La xantina-deshidrogenasa, la forma habitualmente presente de la enzima, cataliza la misma reacción, de hipoxantina a ácido úrico, pero enviando el electrón obtenido, al sistema NAD, que acepta el electrón, y que, mediante una serie de reacciones de óxido-reducción, dispone del mismo, sin la producción de oxi-metabolitos. Como se menciona al inicio, esta reacción ejemplifica cómo, si se reúnen las circunstancias necesarias, se puede presentar la formación de oxi-metabolitos, misma que no debería ocurrir de no existir las condiciones descritas, en este caso, isquemia/reperfusión.

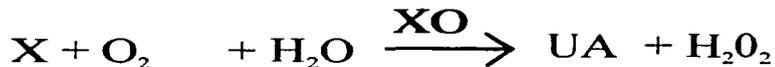
Cabe señalar que las situaciones de isquemia/reperfusión se presentan en múltiples circunstancias clínicas: paro cardio-respiratorio recuperado, tromboembolismo pulmonar, trombolisis coronaria, trasplantes orgánicos, cirugía vascular, e incluso cualquier patología que curse con hipoperfusión o alteraciones en el aporte de oxígeno a un área específica, y que después sea corregida. La activación del sistema xantina-oxidasa también se puede dar por circunstancias distintas de la isquemia: activación del complemento, neutrófilos activados, proteasas, los mismos radicales libres de otra fuente o de la propia reacción, interferón gamma, etc. Esta capacidad de activación por múltiples vías, probablemente explique el fracaso de un enfoque único terapéutico para intentar bloquear la vía, como la utilización de alopurinol como monoterapia, un inhibidor de la xantina-oxidasa, como se ha intentado en algunos trabajos iniciales sobre el tema.

ESTALLIDO RESPIRATORIO

El fenómeno del estallido respiratorio es una fuente muy peculiar de oxi-metabolitos. Los procesos hasta ahora descritos representan fuentes casuales o patológicas de los mismos, en cambio, el estallido respiratorio, a diferencia

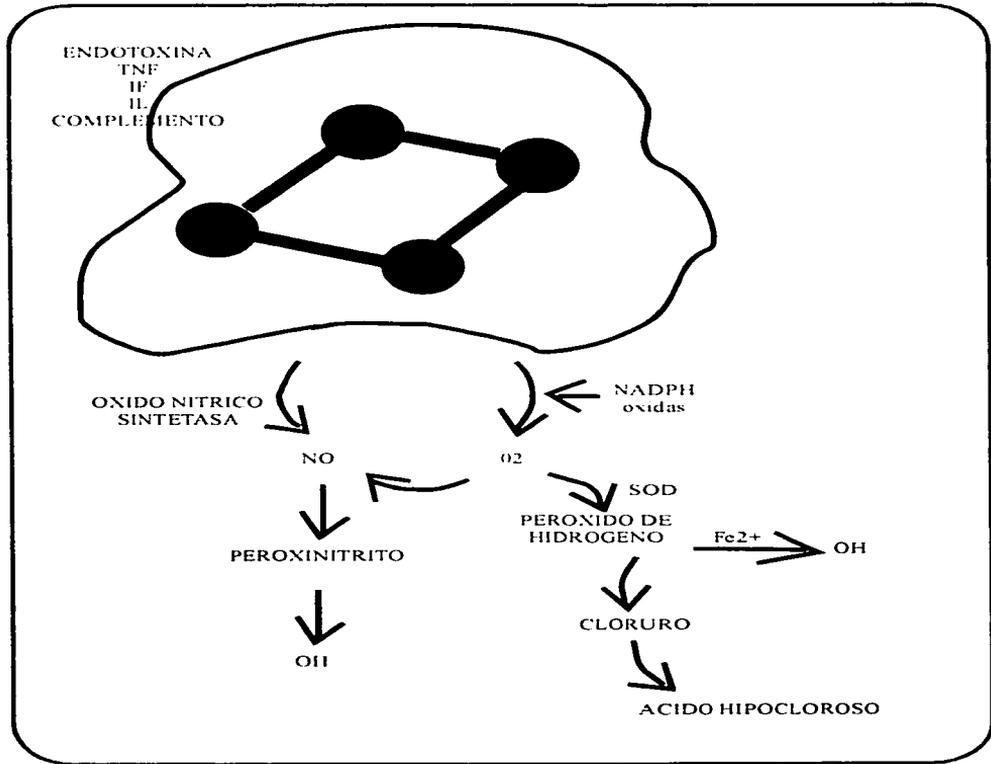
sistema XANTINA OXIDO-REDUCTASA

Tanto la Xantina-Deshidrogenasa (XD) como la Xantina-Oxidasa (XO) tienen como sustrato a la xantina y a la hipoxantina. Ambas obtienen de su acción sobre ésta, un electrón. La XD lo entrega al sistema NAD-NADH, pero la XO lo entrega al oxígeno, formándose así Metabolitos tóxicos del oxígeno.



de aquellas otras fuentes descritas, es una reacción diseñada exclusivamente por los sistemas biológicos para la generación de oxi-metabolitos, por lo que no es casual ni patológica o accidental. Constituye una importante barrera de defensa con fines bactericidas. Sin embargo, nuevamente, su sobre-activación puede generar tal número de oxi-metabolitos que se puede producir daño a estructuras distintas de las que en forma inicial se intentaba (bacterias). Este fenómeno es producido por los neutrófilos, se lleva a cabo principalmente en la membrana celular, aunque también se puede efectuar a nivel del citoplasma, cercano a los fagosomas, a cuyo interior son vertidos los oxi-metabolitos así formados, en donde actuarán en contra de las bacterias previamente fagocitadas. En condiciones normales, en estado de reposo o quiescente, el polimorfonuclear tiene una actividad oxidativa mínima e incluso efectúa metabolismo anaeróbico. Una gran variedad de agentes es capaz de estimular a dicha célula, para hacerlo pasar a un estado "activado". Esta estimulación y consecuente activación, va seguido de un incremento súbito e intenso en el metabolismo, observándose un gran consumo de oxígeno, motivo por el cual se le conoce como "estallido respiratorio". Mientras que la producción de oxi-metabolitos en estado basal o quiescente es prácticamente de cero, un polimorfonuclear es capaz de producir 100 millones de moléculas de superóxido por célula por segundo, dando una idea del gran potencial tóxico de esta vía. En situaciones de estimulación infecciosa/inflamatoria intensa, persistente o repetida, el polimorfonuclear puede pasar a un estado de "sobreactivación", en el cual pueden producirse una gran cantidad de radicales y otros mediadores.

PRODUCCION MT02 POR NEUTROFILOS



METABOLITOS TOXICOS DEL OXIGENO FUENTES MENORES

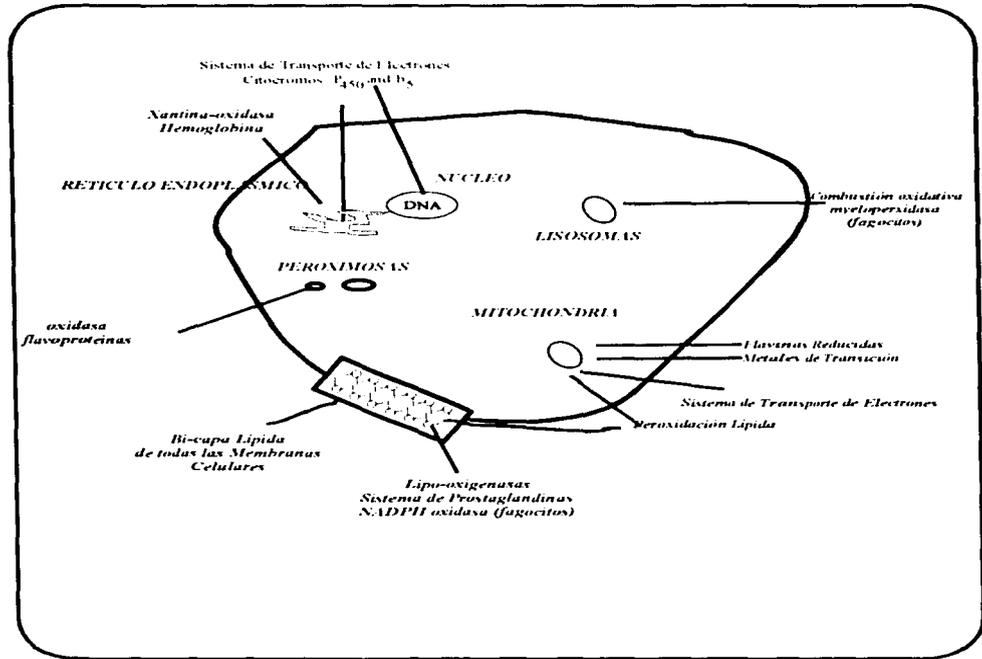
Aunque proporcionalmente menos importantes, existen muchas otras reacciones que son capaces de generar oximetabolitos, algunas de ellas bien conocidas, mientras que otras apenas se encuentran en la etapa de descripción parcial.

Se ha mencionado la formación de ácidos hipocloroso, hipobromoso e hipoyodoso, como metabolitos secundarios producidos por reacción de haluros y peróxido de Hidrógeno. Estos ácidos a su vez, son capaces de reaccionar con aminas endógenas, produciendo cloroaminas, poderosas y liposolubles oxidantes de vida media larga, y que pueden ser responsables de buena parte de la toxicidad mediada por neutrófilos. La reacción del su peróxido con óxido nítrico, idéntico o relacionado con el factor de relajación derivado de células endoteliales, puede a su vez generar nuevas especies tóxicas. Se forma así el anión peroxinitrito (ONOO⁻), un fuerte oxidante, cuyo potencial tóxico es aumentado por una larga vida media, y que por el sitio de formación puede dañar el endotelio vascular, en conjunto con la eliminación de los efectos del óxido nítrico.

Aún se debate si los neutrófilos son capaces de generar Hidroxilo sin Hierro exógeno, sin embargo, es perfectamente aceptado que estas células son capaces de producir Hidroxilos utilizando Hierro disponible localmente, como derivado de la Hemoglobina, así como Hierro de las propias bacterias.

El paso sucesivo de un electrón por diferentes moléculas, en un fenómeno conocido como ciclo Redox, en el cual la aceptación y entrega (reducción y oxidación) de dicho electrón a diferentes moléculas, habitualmente en serie, genera oxidaciones y reducciones secuenciales de las mismas, produce, en diferentes pasos, verdaderos radicales. Cuando se hace con moléculas endógenas, y en forma controlada, habitualmente no ocurre daño por dichos radicales. Pueden presentarse ciclos

FUENTES CELULARES



redox por el acarreo electrónico sucesivo involucrando compuestos como vit C, E, glutatión, el sistema NADP-NADPH y otros. Algunos xenobióticos pueden entrar a este tipo de ciclos redox, en reacciones catalizadas por flavoproteínas. El paraquat, un biperidil y potente herbicida, es un ejemplo clásico que puede interactuar así con el sistema NADPH. NADPH, la forma reducida, entrega un electrón al paraquat, reduciéndolo a su vez, pasando aquél compuesto a la forma oxidada, NADP. Se forma un radical paraquat, con un electrón en exceso. Este electrón es donado a oxígeno molecular, produciendo superóxido y regenerando paraquat. El paraquat no se consume en esta reacción, pudiendo re-entrar al ciclo, mientras haya electrones que acarrear, provenientes del sistema NADPH citocromo P-450. Se produce así toxicidad principalmente pulmonar, por daño oxidativo. Una clase de compuestos, conocida como quinonas, pueden ser sometidas a ciclos redox y producir superóxidos. El ejemplo más conocido es el agente quimioterapéutico doxorubicina y daunomicina. Se forman radicales con estos compuestos, que constituyen un mecanismo importante de la toxicidad por los mismos, en especial cardiotoxicidad por daño oxidativo.

Similarmente, una semiquinona (o varias), pueden convertirse en radicales, produciendo oxi-metabolitos, con acción principal sobre el DNA generando daño o mutagénesis. El sitio de acción principal de estos agentes es el epitelio pulmonar, ya que estas semiquinonas se encuentran en los productos de combustión de los cigarrillos, en cantidades muy altas.

La radiación ionizante es otra fuente exógena de radicales libres de importancia biológica. Se piensa incluso que esta generación de radicales libres de oxígeno son parte del mecanismo de acción tumoricida de dicha radiación, y puede explicar en parte también, la relativa radio-resistencia del centro hipoxémico de tumores de mayor tamaño.

Los metabolitos tóxicos pueden afectar cualquier molécula biológica, esto será precisado adelante. En este momento, se debe subrayar que, como producto de la acción de

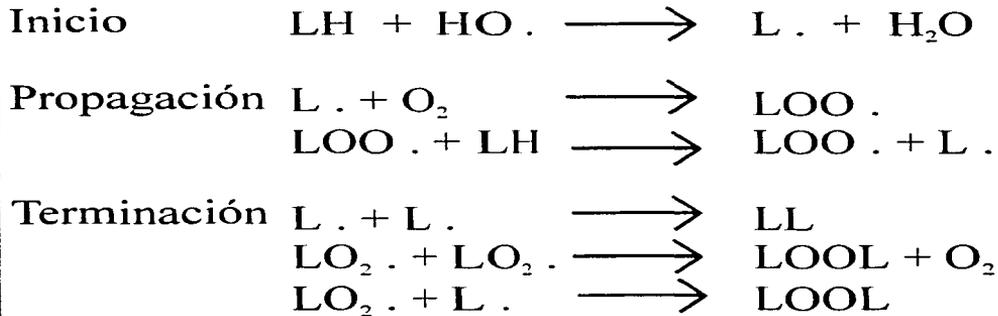
los oxi-metabolitos sobre algunos compuestos biológicos, se forman a su vez radicales libres del producto inicialmente atacado. El ejemplo más característico son los radicales libres producidos por el mecanismo de peroxidación lípida.

Peróxidos Orgánicos. Peroxidación Lípida.

Por la importancia biológica del concepto, la peroxidación lípida es una reacción a considerar. Tiene tres componentes, Iniciación, Propagación y Terminación.

La reacción es iniciada cuando un oxi-metabolito, habitualmente Hidroxilo y probablemente radicales oxi-ferrosos, ataca el núcleo lípido de la membrana celular. El blanco principal son los ácidos grasos poli-insaturados (PUFAs) de dicha membrana. Este ataque daña la membrana, pero a la vez, genera un nuevo radical, un radical lípido secundario, denominado genéricamente peroxilípido. Este puede continuar la reacción, al atacar por sí mismo ácidos grasos vecinos, en la denominada fase de Propagación. De no producirse estos peroxiradicales la reacción de daño oxidativo terminaría ahí, al consumirse el oxi-radical que le dió origen. No obstante, como resultado de la formación de peroxiradical lípido, continúa la reacción oxidativa. El efecto del ataque de un PUFA vecino por el nuevo radical es la formación de un tercer radical, hidro-peroxi-lípido, y un nuevo radical alquil. Se denomina Propagación a esta fase de la cadena por la formación de varios radicales secundarios, que aumentan el daño en forma considerable, de tal forma que un radical de oxígeno único, es capaz de ser amplificado en su potencial tóxico por los nuevos radicales, pudiendo mantener la reacción retroalimentada positivamente de forma prácticamente interminable. La reacción solo puede ser terminada por mecanismos antioxidantes endógenos. o bien por la interacción de dos radicales lípidos entre sí con lo que ambos se inactivan. constituyendo la tercera fase o de Terminación. formando un no-radical.

PEROXIDACION LIPIDICA



METABOLITOS TOXICOS DEL OXIGENO ALTERACIONES MOLECULARES MEDIADAS POR OXI-RADICALES

Prácticamente cualquier molécula biológica puede ser atacada y dañada por los oxi-metabolitos. El daño se puede resumir por su importancia biológica, por lesión a proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. El daño puede ser tanto estructural como funcional, pudiendo en cualquier caso afectar adversamente la fisiología celular. Este daño representa la base estructural de la disfunción orgánica y finalmente sistémica, producida por stress oxidativo.

Proteínas.

Se pueden dañar proteínas estructurales de paredes celulares u organelos y proteínas funcionales, habitualmente solubles, como las enzimas. Las proteínas son las macromoléculas más abundantes en los seres vivos, y, de hecho, constituyen aproximadamente el 50% del peso seco de las células. Las funciones biológicas de las proteínas incluyen transporte, almacenamiento, contractilidad, estructura, catálisis, regulación, síntesis y transmisión de información, de donde puede inferirse la gravedad de un daño inespecífico y diseminado. No existe ninguna proteína capaz de escapar al daño oxidativo, pero los constituyentes particularmente susceptibles son los aminoácidos tirosina, histidina y cisteína. Su lesión produce desnaturalización y/o fragmentación, con evidentes implicaciones estructurales y funcionales. Los grupos tiol son muy susceptibles a la oxidación, llevando a la formación de disulfuros (RSSR), ácido sulfénico (RSOH), ácido sulfínico (RSO_2H), o ácido sulfónico (RSO_3H), por pérdida secuencial de dos electrones respectivamente por paso y por compuesto. Es de notarse la posibilidad de formación de un radical análogo a los radicales lípidos en la reacción de peroxidación lípida. El daño proteico estructural resulta en cambios en la posición de puntos isoelectrónicos, orientación estereoscópica, hidrofobicidad, agregación y orientación de sitios activos. También se puede aumentar la susceptibilidad de la proteína a la hidrólisis, aunque el daño inicial no haya sido severo.

Lípidos.

Los ácidos grasos poli-insaturados (PUFA's) son fácilmente susceptibles al daño oxidativo. Como las proteínas, los lípidos son parte estructural muy importante en los sistemas biológicos, y su prevalencia es muy amplia en todos los tejidos, ocupando un lugar muy especial en la constitución de membranas celulares y organelos, así como la membrana nuclear. Ya se ha mencionado la reacción llamada peroxidación lípida, en la cual se sustrae un Hidrogenion de las cadenas laterales de los ácidos grasos, llevando a la formación de radicales peroxilípidos. La formación de los mismos inicia entonces una reacción autocatalítica, auto-propagante y muy destructiva. Ocurren como consecuencia del daño, re-ordenamientos moleculares estructurales y reacciones de escisión que llevan a toda una variedad de productos de descomposición lípida, incluyendo aldehídos y alcanos. El radical peroxil ($\text{HOO}\cdot$), la forma ácida conjugada del super-óxido, puede iniciar la peroxidación lípida por dos vías, una dependiente de bajos niveles existentes de hidroperóxido del ácido graso, y una independiente de éste compuesto. Como ocurre con las proteínas, los fosfolípidos peroxidados son más susceptibles a la hidrólisis por fosfolipasa A2, aunque el daño oxidativo en sí no haya sido muy severo, esta hidrólisis culmina con la destrucción de la molécula.

Acidos Nucleicos.

Es probable que por la naturaleza propia de los mismos, el daño más ominoso por oxidación involucre los ácidos nucleicos. El stress oxidativo al DNA interfiere no solo con la capacidad sintética global de la célula, tanto para productos necesarios a la misma, como para productos de secreción o excreción celulares, sino que también interfiere con su capacidad para replicarse y/o repararse. El daño mediado por oxi-metabolitos al DNA también se ha asociado con carcinogénesis y mutagénesis. Se han descrito toda una serie de metabolitos del ácido nucleico dañado, y considerados como

producto final de daño mediado por oxidación, entre los más conocidos se encuentran 2.6 diamino-4-hidroxi-5-formamido-pirimidina y 8-hidroxi-guanina. Estos metabolitos se pueden identificar en orina, y de hecho, constituyen una de los métodos indirectos de laboratorio para detectar o inferir daño oxidativo en proceso. La lesión oxidativa al DNA puede producirse en segundos o fracciones, y experimentalmente se ha demostrado que puede ocurrir antes de que se pueda documentar daño a otras estructuras celulares. Una razón especulada es el hecho de que frecuentemente el daño al DNA es producido por Hidroxilo, un radical de acción oxidativa extraordinariamente rápida, al que se le estima una vida media de un nanosegundo. La presencia de Hierro unido al DNA puede aumentar la producción de Hidroxilo.

El daño oxidativo al DNA puede producir separación de cadenas o ruptura interna en cadenas únicas, lo que se manifiesta como profundas alteraciones funcionales en todas las reacciones de síntesis y/o mensajes mediados por ácidos nucleicos, con lo que se altera gravemente la síntesis y replicación molecular/celular.

DETECCION DE METABOLITOS TOXICOS

En forma paralela al interés creciente en los aspectos fisiopatológicos que relacionan la formación de oximetabolitos en padecimientos críticos, se ha generado un interés mayor en la detección de dichos compuestos. Desafortunadamente, la detección directa, con medición cualitativa o cuantitativa de los compuestos tóxicos derivados del Oxígeno, es posible solo en casos muy específicos. Tal es p. ej. la cuantificación de peróxido de Hidrógeno en el aire espirado. La medición de daño ha tenido que ser en la mayor parte de los casos, en forma indirecta, buscando más bien evidencia de la aparición de metabolitos formados como consecuencia de la lesión a moléculas orgánicas atacadas por radicales libres. La mayor parte de los ensayos sugeridos carecen de la sensibilidad y especificidad necesarias para poder considerar que contamos con un método universalmente aceptado para estimar y mucho menos cuantificar el daño oxidativo. Así, nos limitaremos a enunciar los métodos más utilizados, y solo se comentará respecto a los que así lo ameritan por su importancia. Los métodos descritos para detectar Oxi-metabolitos o el daño que estos producen se enlistan a continuación:

1. Detección directa por Resonancia electrónica.
2. Medición de especies reactivas del ácido tio-barbitúrico.
3. Cuantificación directa de Malondialdehído.
4. Cuantificación de otros productos de degradación de Acidos Grasos Poli-insaturados.
5. Medición de hidroperóxidos de Acidos Grasos Poli-insaturados o sus alcoholes correspondientes.
6. Detección de alcanos (hidrocarbonos volátiles) tales como etane y pentane, producidos por la beta-escisión de Ac. Grasos Poli-insaturados.
7. Medición de dienos conjugados, productos de la lesión a Ac. Grasos Poli-insaturados.

8. Cuantificación de productos de la lesión oxidativa a metionina y cisteína.
9. Productos con contenido carbonil como metabolitos derivados de proteínas dañadas.
10. Cuantificación de antioxidantes endógenos cuya disminución sugiere consumo.
11. Reducción del nitroazul de tetrazolio.
12. Ensayos que reflejan daño oxidativo a los ácidos nucleicos.

Como es posible inferir del listado previo, se podría interpretar tres tipos de pruebas: aquellas que miden en forma directa los oxi-metabolitos, muy escasas y de poca importancia práctica; pruebas que miden metabolitos producidos por daño oxidativo a diversas moléculas, tales como lípidos, proteínas y DNA; finalmente, pruebas que confían en la disminución de antioxidantes endógenos presuponiendo que dicha disminución se debe a un consumo, lo que las convierte en pruebas indirectas y relativamente poco confiables, el principal inconveniente es que los diversos metabolitos son inactivados de diversas formas e incluso puede haber gran variación en los mecanismos de inactivación dependiendo del sitio en que los metabolitos se estén formando.

Las pruebas más numerosas son las que cuantifican productos resultado de la degradación molecular por daño oxidativo.

No es de llamar la atención que la mayor parte de las pruebas disponibles confíen en la detección de metabolitos de Ácidos Grasos Poli-insaturados (PUFA), ya que, como se ha establecido, la peroxidación lipídica por oxi-radicales es una de las reacciones prototipo del daño oxidativo.

Malondialdehído: Es una de las macromoléculas formadas como efecto del daño a PUFA. Su determinación constituye uno de los ensayos más conocidos, si bien controversial. Es una molécula de tres carbonos, se puede cuan-

tificar en su estado nativo o como algún derivado. Debe resaltarse que es una molécula muy reactiva y que se puede entonces unir con gran facilidad a toda una serie de macromoléculas, de tal forma que la cuantificación de malondialdehído habitualmente sub-valora la cantidad total formada. El ensayo más utilizado para su estimación, utiliza precisamente este potencial de reactividad para unirlo a dos moléculas de ácido tiobarbitúrico, lo cual da lugar a la formación de un cromóforo rojo, denominado "Especies reactivas del ácido tiobarbitúrico", de forma que es frecuente escuchar este último término como una manera de cuantificar malondialdehído. También debe subrayarse que el ensayo referido (especies reactivas) no es específico para malondialdehído, ya que puede interactuar, uniéndose con algunas proteínas, amino-azúcares, 2-desoxiribosa, sucrosa, hemoglobina, bilirrubina, pirimidinas y otros productos. Debe además mencionarse que el malondialdehído no es el único metabolito producido por el daño oxidativo a PUFA, e incluso se aparición depende del tipo específico de ácido graso atacado. También, el medio ambiente de peroxidación en que se forma, influencia tanto la formación como la descomposición del malondialdehído, el que, como se ha mencionado, ya es en sí mismo muy reactivo y puede desaparecer con rapidez. Finalmente, este compuesto se puede formar por daño oxidativo a otras varias macromoléculas no lípidas. Por todos estos motivos, este ensayo puede ser útil en condiciones in vitro, en las que se puede controlar los tipos de moléculas involucradas y en ausencia de contaminantes o moléculas con las que pueda reaccionar y desaparecer como producto reactivo y susceptible de ser cuantificado. Parafraseando una expresión ya acuñada, el ensayo de malondialdehído puede representar solo un indicador empírico de la ocurrencia potencial de daño oxidativo a lípidos.

Hidroxialdehidos: Estos compuestos también pueden ser cuantificados por técnicas de cromatografía, líquida y de gas, este ensayo mejora la especificidad, ya que estos compuestos aldehidos, de cadenas más largas, reflejan más específicamente la presencia de productos de descomposición de la reacción de peroxidación lípida.

Dienos conjugados: Probablemente el ensayo citado como segundo utilizado en la detección de daño oxidativo. Se fundamenta en el hecho de que los PUFA tienen en su estructura dobles uniones que se encuentran intercaladas entre puentes de metileno completamente saturados. Como resultado de la reacción de peroxidación lípida, esta estructura de doble unión sufre un re-arreglo, con objeto de estabilizar un electrón no pareado que se produce como resultado de la reacción. El compuesto así formado contiene dobles ligaduras que le confieren una estructura que le permite comportarse espectrofotométricamente absorbiendo la luz ultravioleta a 234 nm, de manera que este comportamiento es la base del ensayo. Se puede entonces observar una pequeña "rodilla" alrededor de 234 nm que refleja la presencia de dienos conjugados. Debe no obstante enfatizarse que existen numerosas moléculas que pueden tener el mismo comportamiento espectrofotométrico, por lo que el ensayo pierde especificidad pudiendo sobre-estimar la presencia de dienos conjugados, e indirectamente daño oxidativo.

Hidroperóxidos lípidos: Un radical formado durante la reacción oxidativa de peroxidación lípida, puede cuantificarse por fraccionamiento por cromatografía líquida, o utilizando su capacidad para activar la ciclo-oxygenasa en un bio-ensayo, o bien titulando su reducción utilizando glutation como el agente reductor. Este ensayo o uso combinado, aumenta aproximadamente 50 veces la sensibilidad con respecto al de especies reactivas del ácido tio-barbitúrico.

Detección de alcanos por cromatografía de gas: Varios alcanos se forman como producto de la peroxidación lípida, sobresaliendo etane y pentane. Estos pueden ser medidos en aire espirado por tecnología de cromatografía de gas, aprovechando su alta volatilidad y liposolubilidad, lo que les permite llegar rápidamente al aire alveolar. Este ensayo agrega una característica a la detección de daño oxidativo, ya que es un indicador de tiempo real.

Consumo de antioxidantes: Diversos antioxidantes endógenos pueden consumirse durante la generación de metabolitos tóxicos del oxígeno. Estos compuestos se pueden cuantificar en forma secuencial, de tal forma que la disminución en sus concentraciones puede inferir un consumo, aunque el mismo no necesariamente es específico para detectar producción de radicales. Los más utilizados son ácido ascórbico, ácido úrico, alfa tocoferol, y más especialmente GSH, que se oxida a disulfuro de glutation.

Reducción de Nitroazul de tetrazolio: El nitroazul de tetrazolio es un colorante que cambia de amarillo a azul en presencia de superóxido, de tal manera que esta característica se puede usar para inferir la presencia cualitativa de superóxido. La técnica ha sido usada experimentalmente en modelos de isquemia-reperfusión en cerebro de animales de experimentación, requiriendo la infusión del colorante mediante una ventana ósea, en forma directa a la superficie cerebral del animal en cuestión, con resultados cualitativos alentadores, ya que incluso el cambio de coloración es evitado por incluir superóxido dismutasa en la infusión, misma que elimina el superóxido e impide la reacción con el colorante.

Contenido de carbonil proteico: En un ensayo que tiene un principio similar a la detección de malondialdehido, se puede determinar un metabolito resultado del daño oxidativo a proteínas. Se considera que un producto de la oxidación del ácido glutámico, gamma Glutamyl-semialdehido, constituye el sustrato para este ensayo.

LESION CELULAR MEDIADA POR OXI-METABOLITOS

Es obvio que la lesión funcional o estructural a moléculas como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos, importantes constituyentes celulares, también funcional o estructuralmente, producirá repercusiones en el funcionamiento celular, dependiendo de la intensidad del daño y que puede incluso llegar a la muerte celular.

El daño celular por stress oxidativo se ha conocido esencialmente a través de información experimental por lo que es necesario conocer esta información para analizar la disfunción celular que eventualmente podría llevar a disfunción orgánica, dependiendo nuevamente de la intensidad del daño producido.

Experimentos en Cultivos Celulares

Existe información que ya puede considerarse como clásica, y que es necesario conocer. A su vez, algunos tipos celulares son considerados como prototipo de daño por reacciones oxidativas. Es probable que la información más consistente se haya producido en trabajos con células nerviosas y alveolares.

La generación de superóxido en medios con células de glia, produce en éstas cambios morfológicos progresivos que incluyen pérdidas de vellosidades, aparición de vesículas, ruptura y finalmente necrosis, lo cual se ha relacionado estrechamente con la aparición de productos reactivos del ácido tiobarbitúrico y que se consideran indicativos de peroxidación lípida. Experimentos en células endoteliales han demostrado además el efecto sinérgico de diferentes oxi-radicales y su relación con daño proteolítico. Neumocitos tipo II creciendo en medios ricos en oxígeno muestran liberación aumentada de deshidrogenasa láctica citosólica, con disminución simultánea de síntesis de DNA y su producto exocrino clave, dipalmitoil fosfatidilcolina (surfactante pulmonar). Estas mismas

células, expuestas a peróxido de hidrógeno una disminución en sus almacenes de ATP en un 77% apenas después de 5 min de exposición. En este contexto, la mitocondria parece ser el blanco clave del daño oxidativo, iniciando por alteraciones funcionales mostrando predilección por el complejo enzimático ATPasa sintetasa. En forma inicial, la cadena electrónica mitocondrial parece inafectada. El mismo peróxido de hidrógeno induce también una franca disminución en la síntesis de surfactante aún en concentraciones muy bajas, e incapaces de producir cambios morfológicos, manteniendo incluso viabilidad celular. La disminución en esta producción es además concentración-dependiente. Si se protege a estos tipos celulares con antioxidantes, en especial enzima Catalasa (por el tipo de metabolito administrado), los cambios funcionales pueden ser evitados, o, al menos, atenuados. En trabajos más complejos, se pueden conseguir resultados similares exponiendo las células cultivadas a neutrófilos activados, y si bien se podría especular que las vías de daño potencial son múltiples por las múltiples armas potenciales de los neutrófilos, los cambios nuevamente pueden reducirse considerablemente con terapia antioxidante, por lo que se sugiere que una parte importante del daño mediado por neutrófilos es producido a través de oxi-metabolitos. Los neumocitos tipo II parecen ser más sensibles a este daño que otros tipos celulares probados. Algunos componentes específicos de las células tipo II son un blanco demostrado para los oxi-metabolitos. y en especial el surfactante ha demostrado reiteradamente susceptibilidad para el daño oxidativo.

Alteraciones en Membranas Celulares

Una de las características muy tempranas de la lesión oxidativa a las membranas celulares, es el cambio que se produce en deformabilidad y permeabilidad. Los cambios en deformabilidad son particularmente trascendentales en células como los eritrocitos, ya que estos cambios pueden tener una importancia fisiopatológica primaria en alteraciones

habituales en pacientes críticos: relación aporte-consumo, trastornos de microcirculación, corto-circuitos pulmonares y periféricos. Estos cambios han sido estudiados en modelos de ligadura cecal y en células cultivadas in vitro, y pueden ser atenuados por antioxidantes. Los cambios de deformabilidad de la membrana se han asociado con cambios moleculares físicamente y funcionalmente, con alteraciones de permeabilidad y de potencial trans-membrana en células musculares y de conducción (p. ej. en miocardio). Se han postulado en este contexto alteraciones en las corrientes de potasio y los canales de membrana activados por Calcio.

Flujos de Calcio Trans-membrana

La alteración de la membrana celular por daño oxidativo ha mostrado producir un incremento en la concentración intracelular de Calcio libre. Esto tiene gran importancia biológica ya que puede potenciar el daño en el contexto de isquemia-reperusión, o incluso inducirlo, al activar las proteasas intracelulares, y puede ocurrir secundariamente a alteraciones de membrana que llevan a la aparición de nuevos ionóforos cálcicos. Durante el daño por isquemia-reperusión se ha identificado a la entrada de Calcio como un elemento trascendental, incrementando hasta cinco veces las concentraciones intracelulares del ion, evento precedido por la aparición de "ampollas" en la superficie de la membrana.

Numerosas enzimas celulares han mostrado alta susceptibilidad al daño por oxi-metabolitos. Se incluyen catalasa, ATP-asas, aconitasa, aciltransferasa, fosfato-deshidrogenasa, glutamina-sintetasa, xantina-oxidasa y componentes de la cadena mitocondrial electrónica, incluyendo NADH deshidrogenasa, NADH oxidasa, succinato oxido-reductasa (deshidrogenasa y oxidasa) y ATP sintetasa entre otras. La peroxidación lípida produce disfunción y depauperación de receptores beta adrenérgicos.

Otro componente proteico celular que se ha demostrado es muy sensible al daño oxidativo, es la alfa-1-antitripteasa, con inactivación de la enzima por daño oxidativo

en un importante residuo metionina. La presencia de anti-oxidantes inhibe el daño y la inactivación funcional de la protefna. En todos estos casos se ha demostrado la sinergia entre las diferentes vías productoras de daño oxidativo. Otros componentes celulares como proteoglicanos de la celular y extracelular también pueden ser dañados.

Reactividad Vasculuar y de Vía Aérea.

Los oximetabolitos pueden jugar un papel importante si bien complejo en este apartado. Pueden iniciar la cascada del ácido araquidónico, con la producción de compuestos vasodilatadores y constrictores. La inactivación, por peróxido de hidrógeno, de la guanilato-ciclasa, es un fenómeno conocido y capaz de afectar la transducción de señal y la contracción del músculo liso. Las diversas especies de oxi-metabolitos, han demostrado el potencial para inducir directamente una hiper-responsividad en la vía aérea pequeña. Nuevamente el peróxido de hidrógeno puede inducir la producción de Tromboxano A2 sin alterar la síntesis de prostaglandina E2. En modelos caninos de isquemia-reperfusión los oxi-radicales pueden liberar histamina, efecto atenuado por antioxidantes.

ANTIOXIDANTES ENDOGENOS Y TERAPIA ANTIOXIDANTE

Existen una serie de defensas antioxidantes naturales que impiden normalmente el daño debido a los derivados tóxicos del oxígeno, de tal manera que solo en circunstancias clínicas especiales, habitualmente en condiciones de gran desarreglo fisiológico, la formación de oximetabolitos llega a ser de tal magnitud que vence a estas defensas endógenas. En forma muy general, las defensas antioxidantes son compuestos químicos o enzimas, y se pueden agrupar en cuatro diferentes categorías:

1. Compuestos de bajo peso molecular, solubles.
2. Compuestos donadores de grupos sulfhidrilo.
3. Proteínas que en composición contienen grupos sulfhidrilo.
4. Enzimas antioxidantes.

Desde el punto de vista funcional, se pueden considerar como antioxidantes primarios, cuando el efecto consiste en inhibir la cadena de reacciones formadoras de radicales libres, bien por remover los precursores de los mismos, bien por inactivar los catalizadores. O bien como antioxidantes secundarios, cuando actúan deteniendo la cadena de reacciones cuando ésta ya se ha iniciado, y que habitualmente reaccionan con los radicales ya formados.

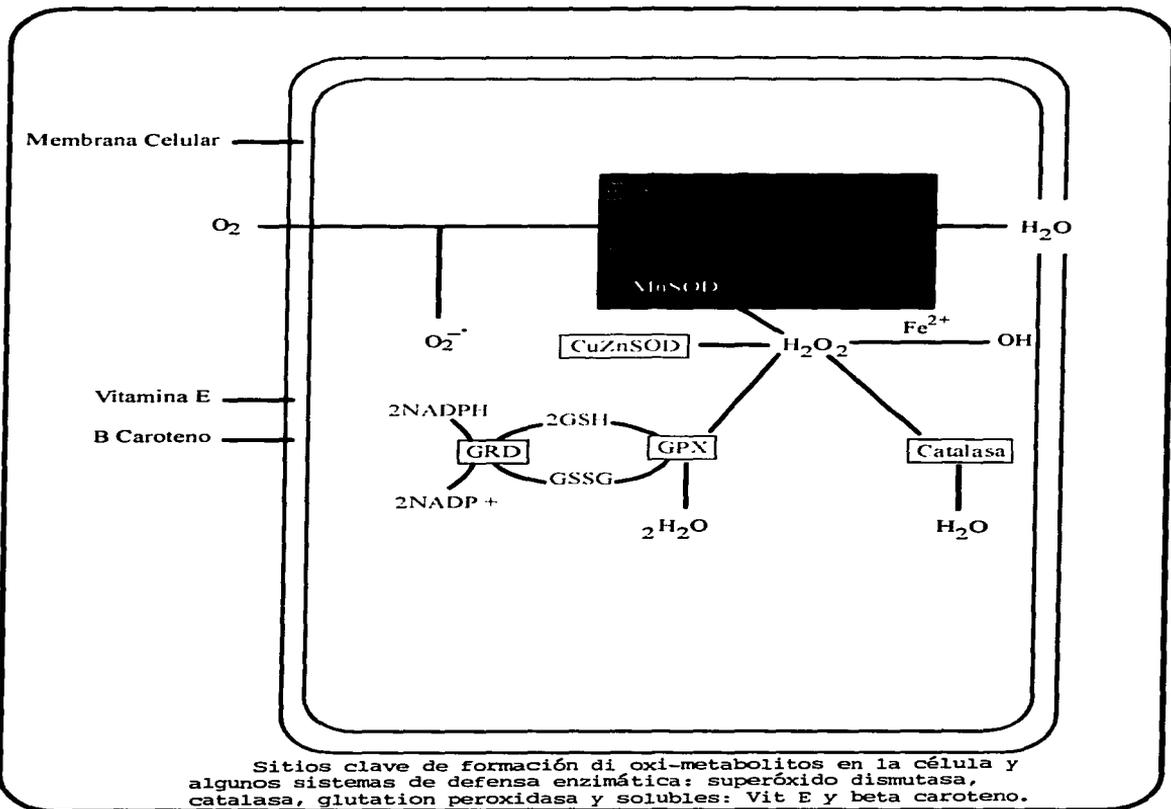
Los primarios previenen las reacciones que inician la formación de radicales libres, fundamentalmente manteniendo la estructura, integridad y arquitectura celulares, así como estabilizando o incluso secuestrando los metales transicionales que pueden catalizar las reacciones. Son ejemplos de primarios: glutatión-peroxidasa, deferoxamina. Como se menciona, los secundarios reaccionan habitualmente con los radicales ya formados, inactivándolos; ejemplos clásicos son las enzimas Superóxido dismutasa, Catalasa, la forma independiente de selenio de la glutatión-peroxidasa y compuestos como vit. E y C.

En términos generales también, se puede decir que las enzimas son esencialmente intracelulares, mientras que los

compuestos solubles tienen un efecto principalmente extracelular aunque también pueden ejercer una función antioxidante en el interior de la célula.

La vitamina E (alfa-tocoferol), es probablemente el antioxidante más relevante soluble. Junto con otros compuestos puede participar en reacciones de acarreo electrónico secuencial tipo Redox, llevando los electrones desde un radical hasta complejos capaces de aceptarlos sin producir radicales tóxicos, como el sistema NADP-NADPH. El ácido ascórbico es un potente donador de electrones, característica que le permite reaccionar principalmente con los radicales superóxido e hidroxilo, así como con el no-radical peróxido. Al donar electrones, forma un compuesto oxidado que posteriormente es reducido nuevamente por glutatión reductasa. En este proceso no se consumen los antioxidantes mencionados, de tal forma que su función se mantiene. La vit C asimismo puede actuar como un prooxidante que reduce la forma férrica a ferrosa del Hierro el cual se necesita para formar hidroxilo a partir del peróxido de hidrógeno. Las vitaminas E y C actúan en sinergismo, entre ellas mismas, y con los sistemas glutatión y Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH). Otra vitamina, beta caroteno, actúa también como antioxidante, en especial bajo condiciones de baja tensión parcial de oxígeno, y es capaz de disminuir la peroxidación lipídica. En algunos trabajos se menciona que los elementos traza y oligoelementos son antioxidantes. En realidad el efecto no es directo, sin embargo, varios de ellos forman parte obligada de enzimas, sin cuya presencia no funcionan: tal es el caso del Manganeseo, que forma parte de la superóxido dismutasa mitocondrial. Esta misma enzima tiene otra variante, a nivel citoplasmático, que depende de Cobre y Zinc. Ya se ha mencionado la existencia de glutatión peroxidasa dependiente o independiente de Selenio. Para ilustrar la importancia de estos oligoelementos y sus respectivas enzimas, baste recordar la existencia de una variedad de cardiomi-

DEFENSAS CELULARES ANTIOXIDANTES



patía, endémica en la provincia china de Keshan, de la que toma su nombre (enfermedad de Keshan), y que se debe a la profunda deficiencia dietética de Selenio, con lo cual se pierde la acción de la Glutathion peroxidasa dependiente de éste, presentándose una cardiomiopatía idéntica clínica e histológicamente a la cardiomiopatía por Doxorubicina, mediada por radicales libres de oxígeno. Como se ha mencionado en múltiples ocasiones, las interacciones potenciales entre diversos mediadores y cascadas biológicas son múltiples: una excesiva activación de la síntesis de prostaglandinas puede depletar células de Zinc.

Una deficiencia de vit C en presencia de Hierro, puede incrementar notablemente la peroxidación lípida. Alfa tocoferol o vit E previene esta misma reacción, al reaccionar en forma preferencial con los radicales peroxil y alkoxil, formando el radical tocoferol, más estable.

La vit E puede reducir entonces la peroxidación lípida, tanto en el hombre como en animales de experimentación y, si se administra en grandes cantidades previa a una endotoxemia, inhibe esta reacción, disminuye el daño microvascular y la coagulación vascular diseminada y mejora la sobrevida. Se ha demostrado que las concentraciones de vit E disminuyen en ratas posterior a la administración de endotoxinas. Se han reportado bajos niveles de vit E en pacientes con SIRPA inducido por sepsis, con caída de los mismos en especial en las primeras 24 horas de esta complicación.

Enzimas: Dentro del grupo de enzimas con efecto antioxidante, sobresalen dos: la superóxido dismutasa y la catalasa. Ambas tienen como sustrato específico, a dos diferentes compuestos tóxicos derivados del oxígeno: superóxido y peróxido de hidrógeno, respectivamente. Es muy importante hacer notar que el efecto secuencial, coordinado de estas dos enzimas permite la anulación de estos compuestos, llevando el superóxido a peróxido de hidrógeno, y este último hasta agua, sin pasar por el hidroxilo. Se requiere el efecto combinado o secuencial ya que, en el supuesto caso de que

actuara la enzima superóxido dismutasa en ausencia de la catalasa, se acumularía el peróxido de hidrógeno como un metabolito intermedio, y, a pesar de que se estaría eliminando el superóxido, la presencia del metabolito referido sería capaz de causar daño severo oxidativo. Es probable que a esto se haya debido el fracaso de algunos trabajos experimentales iniciales utilizando superóxido dismutasa como terapia antioxidante única. En algunos trabajos, incluso, el daño oxidativo fue potenciado, presumiblemente por aumento de hidroxilo, altamente tóxico, aumento mediado por la acumulación de peróxido de hidrógeno, su precursor, y debido esto a la acción de la superóxido dismutasa. Posteriormente se ha demostrado que la utilización de ambas enzimas puede tener un efecto protector contra el daño oxidativo, cuando se utiliza antes de un estímulo capaz de inducir la formación de metabolitos tóxicos del oxígeno. Estos trabajos han sido más recientes, ya que la administración de superóxido dismutasa y catalasa al inicio fueron muy limitadas o problemáticas, por la antigenicidad (enzimas de origen animal), la necesidad de dosis altísimas de las mismas y la poca penetración celular (se ha mencionado como antioxidantes de efecto primordialmente intracelular). La tecnología de DNA recombinante y recursos técnicos como la presentación de enzimas en lisosomas, han disminuido notablemente estos dos últimos problemas (antigenicidad y penetración celular) y ampliado las perspectivas terapéuticas de las mismas. Ya se ha mencionado también la importancia de la distribución estratégica de estas enzimas así como la necesidad de oligoelementos. El enfoque terapéutico actual es el uso combinado de estas dos enzimas, estando abierta la perspectiva de intentar inducir la producción endógena de las mismas, ya que es conocido el hecho de que estos sistemas enzimáticos antioxidantes se "hipertrofian" en presencia de estimulación progresivamente mayor, tal es el caso de la exposición prolongada y en pequeños incrementos al oxígeno, lo que permite a los animales de experimentación

tolerar fracciones inspiradas de oxígeno cada vez mayores y hasta llegar a rangos considerados como tóxicos (superiores al 60%) sin la aparición de toxicidad pulmonar por oxígeno.

Existen una serie de compuestos con efecto antioxidante, que se pueden considerar como exógenos: alopurinol, N-acetilcisteína, manitol, deferoxamina, coenzima Q, nitrones o nitróxidos, y, muy especialmente, los 21-amino-esteroides, coloquialmente conocidos como "lazaroides"; dimetiltiourea, dimetilsulfóxido, por mencionar los más importantes.

Glutation es un tripéptido: gamma-glutamyl-cisteinil-glicina, un agente sulfhidrilo que se encuentra en el citosol, y que, por una parte pueden reaccionar con su grupo sulfhidrilo con los radicales libres, y que por otra parte, se requiere como un cofactor esencial para la enzima Glutation peroxidasa. Este complejo enzimático tiene su acción principal eliminando peróxido de hidrógeno (al igual que la catalasa); se ha especulado en este sentido el porqué las células contienen dos sistemas enzimáticos que tienen el mismo sustrato, y se han sugerido varias diferencias importantes: la catalasa se encuentra concentrada principalmente en peroxisomas y microsomas, lugar en donde ocurre el metabolismo oxidativo de aminoácidos y ácidos grasos, mientras que Glutation peroxidasa (GPx) existe principalmente en el citosol y la mitocondria. Por otra parte, al parecer, el sistema GPx es más eficiente en presencia de bajos niveles de peróxido, en forma opuesta a la catalasa la que es más activa a mayores concentraciones de dicho metabolito. Finalmente, y a diferencia de la catalasa, GPx no es específica para peróxido de hidrógeno y participa en otro tipo de reacciones, como la descomposición de peróxidos orgánicos. Debe notarse también que el complejo GPx requiere de la presencia de glutation como agente reductor, por lo que podría decirse que otras enzimas, la glutation-reductasa y la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (requeridas para la formación de glutation reducido) también son vitales

en la defensa contra la excesiva formación de peróxidos.

Entre los compuestos a los que nos hemos referido como "exógenos", algunos ameritan comentarios más específicos:

Alopurinol, un inhibidor de la xantina-oxidasa, ha sido analizado en múltiples trabajos involucrando situaciones de isquemia-reperfusion, por razones lógicas. Las situaciones clínicas que involucran este tipo de circunstancia fisiopatológica (isquemia-reperfusion), son múltiples y muy frecuentes; en este apartado baste referirnos a los trasplantes orgánicos y a la isquemia-reperfusion en el contexto de la cardiopatía isquémica. En trasplante, ha habido cierta controversia y no se podría aseverar que se haya demostrado un efecto benéfico del alopurinol, más que en ciertas circunstancias muy particulares. En cirugía vascular y reperfusion coronaria, el alopurinol ha demostrado ser un recurso útil, cuando se utiliza previo a la reperfusion. Se refiere, incluso, que en algunas Instituciones este recurso se utiliza rutinariamente. En trombolisis, se ha demostrado mejoría en función cardiaca y disminución de las arritmias post-reperfusion. En cirugía cardiaca, parece incluso disminuir la mortalidad. Se ha especulado si el efecto del alopurinol es únicamente a través de la inhibición de la xantina-oxidasa, y evidencia reciente sugiere que el efecto protector del alopurinol, y su derivado oxipurinol, al menos parcialmente se debe a un efecto eliminador directo de hidroxilo. La controversia al respecto ha sido ocasionada por la dificultad para demostrar xantina-oxidasa en preparados de miocardio, pero esta controversia ha servido para puntualizar el concepto de que en ocasiones, no se requiere una gran concentración de oxi-metabolitos para producir daño, sino que este puede, entre otras cosas, ser explicado por su formación en sitios estratégicos: a pesar de que, en efecto, parece existir poca xantina-oxidasa en preparados de corazón, ésta se encuentra in vivo en pequeñas cantidades en el endotelio vascular, sitio en el que puede mediar gran daño por isquemia reperfusion.

N-acetil-cisteína tiene múltiples efectos benéficos y en el contexto del tema, elimina peróxido de hidrógeno en forma directa, reaccionando también preferencialmente con el radical hidroxilo. Otros potenciales efectos benéficos son probablemente mediados por sus propiedades anticoagulantes y la potenciación del sistema glutation.

El manitol, un alcohol, tiene un importante efecto eliminador de hidroxilo. Sustraer de éste un hidrogenion formando un radical libre, pero uno que tiene la particularidad de reaccionar preferencialmente con otro similar (manitol-radical), formando un dímero, mismo que, de esta forma verdaderamente "parea" los dos electrones no apareados, uno de cada radical manitol. Esta reacción preferencial genera una especie no-radical, no-reactiva, rompiendo efectivamente la reacción en cadena.

La deferoxamina produce quelación de Hierro, disminuyendo así su disponibilidad para acarrear electrones formando hidroxilo. A pesar de que algunos trabajos han sugerido efectos benéficos de la deferoxamina, en especial en cirugía de puentes coronarios, su principal limitante es su toxicidad intrínseca, lo que impide utilizar dosis altas. Se ha intentado la utilización de congéneres de deferoxamina. En este contexto, es interesante señalar que Ibuprofén, un inhibidor de la ciclo-oxigenasa, y que por su efecto inhibidor de la síntesis de prostaglandinas ha sido utilizado experimentalmente en sepsis y Falla Orgánica Múltiple, habiendo demostrado ser el inhibidor de prostaglandinas más prometedor en este contexto, tiene capacidad de quelar Hierro, y disminuir al menos en el pulmón, el daño oxidativo. Se ha demostrado también que posee propiedades anti-inflamatorias mediadas a nivel de neutrófilo, por vías prostaglandina-independientes.

Coenzima Q en forma fisiológica funciona como una es-"transbordador electrónico" como parte de la cadena mitocondrial de electrones, en donde se le encuentra estratégicamente situada entre las flavoproteínas y los citocromos. Puede aceptar un electrón en su anillo quinona, formando una semi-

quinona relativamente estable, capacidad que define el potencial antioxidante de la molécula. CoQ ha mejorado la función ventricular durante isquemia-reperfusión miocárdica y en modelos de endotoxemia parece mejorar la sobrevivencia en proporción mayor al doble de los testigos. Sin embargo, dado que en modelos de choque endotóxico, disminuye la acumulación de lactato, se ha especulado que pueda ejercer parte de sus efectos benéficos a través de una mejoría en el consumo de oxígeno bajo condiciones de hipoxia, ya que podría estar aumentando el flujo de electrones a lo largo de la cadena mitocondrial de transporte de éstos últimos, en patologías que cursan con alteraciones en aporte-consumo de oxígeno y situaciones potenciales de "bloqueo metabólico".

Los 21-amino-esteroides, conocidos coloquialmente como los "lazaroides", han abierto un potencial uso terapéutico de este grupo químico, después de que parecía haber terminado la controversia concluyendo la no utilización de los esteroides, a dosis farmacológicas, en sepsis y SIRPA. Su estructura ha disminuido considerablemente el efecto glucocorticoide e inmunosupresor, causante, a las dosis consideradas farmacológicas, de buena parte de los efectos que los llevaron a caer en desuso, al favorecer sepsis agregada. En modelos de paro cardio-respiratorio, isquemia miocárdica, trauma cefálico, lesión vascular encefálica, isquemia-reperfusión, trauma espinal, vasospasmo cerebral, han demostrado efectos benéficos importantes. Disminuyen el vasoespasmo, la entrada de Calcio, tienen efecto quelante de Hierro y disminuyen la peroxidación lipídica, efectos a los que se ha atribuido su beneficio terapéutico, a pesar de que aún se especula cuál de éstos o algún otro mecanismo, son los más importantes. Su potencial terapéutico se ve incrementado, debido a que, por su estructura química tienen una gran penetración celular. En varios de estos trabajos, además, se han utilizado posterior al estímulo nocivo, a diferencia de otros enfoques terapéuticos en la prevención del daño oxidativo.

OXI-METABOLITOS Y PATOLOGIA

A la luz de la información actual, puede aseverarse sin temor a caer en exageraciones, que prácticamente todas las situaciones que desencadenan en enfermedades críticas tienen involucradas en su fisiopatología diversos tipos de daño oxidativo. De esta forma, la importancia de los oxi-metabolitos en el paciente críticamente enfermo no puede subestimarse, e involucra más entidades de las que en ocasiones nos percatamos. En situaciones como lesión pulmonar aguda, sepsis, los múltiples estados de isquemia-reperusión, enfermedad vascular aguda, insuficiencia renal aguda, enterocolitis necrotizante, úlceras gastroduodenales, trasplantes y falla orgánica múltiple, es posible encontrar información apoyando el papel fisiopatológico de stress oxidativo.

Es probable que la toxicidad pulmonar por oxígeno haya proporcionado mucha de la información actual en este tema, por lo que se inicia con una discusión al respecto. Dado que el interés de este resumen radica en subrayar los aspectos fisiopatológicos del daño oxidativo, la información presentada en este primer apartado se traspolará a otras situaciones clínicas sin entrar en mayores detalles en éstas últimas.

ENFERMEDADES ESPECIFICAS INVOLUCRANDO OXIGENO PULMON

Síndrome de Insuficiencia Respiratoria Progresiva del Adulto. El daño pulmonar microvascular difuso es característico de esta entidad. Esto causa un edema pulmonar de permeabilidad incrementada. Existen múltiples situaciones clínicas que pueden llevar a SIRPA pero en general se acepta que esta entidad es producto de una respuesta estereotipada que se caracteriza por el daño grave y difuso a la microcirculación, de tal forma que todas las vías potenciales de daño a las que se ha hecho alusión desde el inicio de este resumen se han implicado. En particular, las diferentes vías capaces de producir metabolitos tóxicos del oxígeno, han sido mencionadas.

Sin embargo, debe reconocerse que una evidencia absoluta y convincente involucrando a los oxi-metabolitos como el elemento principal de daño no podrá ser obtenida por la participación multifactorial de diversas vías, todas ellas interactuando entre sí.

Se ha detectado aumento de peróxido de hidrógeno en el aire espirado de sujetos con SIRPA, que, incluso sin considerar necesariamente que la fuente de este metabolito sea el pulmón, esto habla de un imbalance entre oxidantes y antioxidantes. Se encuentran niveles aumentados de antiproteasas oxidadas y de neutrófilos en el lavado alveolar de estos pacientes. Se sabe que la exposición previa a oxidantes incrementa el potencial tóxico pulmonar mediado por elastasa. Existe también evidencia que sostiene la presencia de neutrófilos acitivados y la vía de la xantina-oxidasa como fuentes de oxi-metabolitos como iniciadores o amplificadores de lesión pulmonar aguda

Neutrófilos: Probablemente la fuente más importante de daño oxidativo, se encuentran virtualmente secuestrados en los pulmones de pacientes con SIRPA. Su papel exacto aún se debate pero es claro que su potencial para producir daño vascular es considerable. Evidencia suporta que en esta entidad, hay un número aumentado de neutrófilos en lavado alveolar, actividad deprimida de inactivador de factores quimiotácticos. El plasma de estos pacientes incrementa las propiedades de adherencia de neutrófilos normales, y el índice quimiotáctico, actividad respiratoria y producción de superóxido están aumentados en estos neutrófilos. En experimentación, el uso de diversos antioxidantes y la depleción previa de neutrófilos, han demostrado proteger o disminuir la presentación de SIRPA. La perfusión in vitro de pulmón aislado con neutrófilos provenientes de pacientes con enfermedad granulomatosa crónica, no causa daño vascular, a diferencia de la perfusión con neutrófilos normales acitivados. Los neutrófilos de pacientes con esta entidad son incapaces de producir superóxido. Endotoxina y TNF alfa,

ambos elevados en estos pacientes, pueden atraer y estimular neutrófilos para causar daño vascular. Nuevamente el daño se puede disminuir depletando de neutrófilos y pre-tratando con catalasa. TNF es incapaz de estimular neutrófilos in vitro, en suspensión, pero TNF y contacto con elementos de matriz o células endoteliales, producen cantidades masivas de peróxido de hidrógeno. A pesar de la evidencia clara para el potencial dañino, todos los autores coinciden en señalar que, no obstante, otros mecanismos de daño participan e incluso pueden predominar en algunos casos.

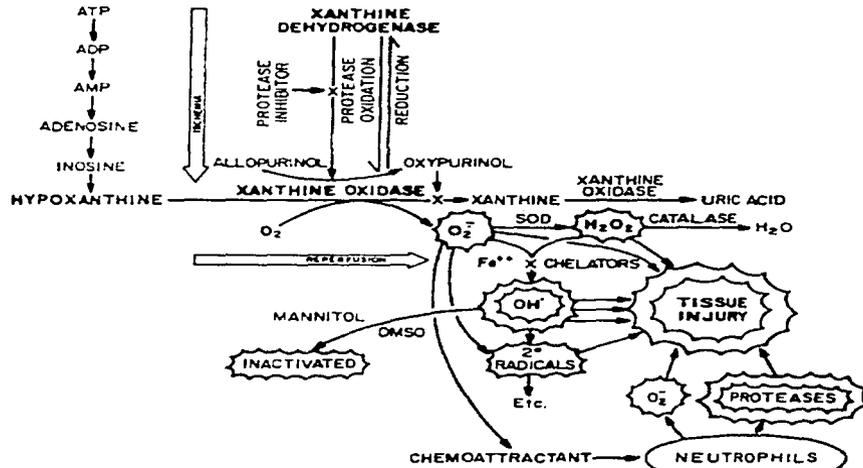
Xantina-Oxidasa: Existe evidencia considerable, aunque solo circunstancial que implica un papel de esta vía en el SIRPA. Hay niveles aumentados de la actividad de XO, y las células endoteliales tienen altos niveles de esta enzima. La actividad de la misma puede inducirse por agentes conocidos inductores de SIRPA. El pre tratamiento con alopurinol, ha demostrado disminución de esta activación y del daño.

Hiperoxia: El daño por oxígeno en altas concentraciones en pacientes intubados es un tema ya aceptado. Se ha demostrado que ésta aumenta la producción de oxi-metabolitos en pulmón, homogenados tisulares, microsomas, mitocondrias, membranas nucleares. La hiperoxia aumenta la toxicidad por agentes cuyos efectos tóxicos están relacionados con la producción de oxi-metabolitos (p. ej. Bleomicina, doxorubicina), y se ha demostrado aumento adaptativo de antioxidantes endógenos en especial enzimáticos en respuesta a exposición a oxígeno. La depleción de antioxidantes endógenos aumenta la toxicidad pulmonar por oxígeno, y el suplementar con antioxidantes exógenos disminuyen la lesión pulmonar por hiperoxia, así como la disminución en neutrófilos circulantes.

Otras entidades aún no críticas, enfatizan el potencial tóxico de los oxi-metabolitos hacia el pulmón: tabaquismo, con el gran contenido de radicales libres en el humo del cigarro (10¹⁶ en cada inhalación); isquemia-reperfusión fibrosis pulmonar, contaminación ambiental (ozono y dióxido de nitrógeno), asma y carcinogénesis.

Estados de Isquemia-Reperusión: Esta situación fisiopatológica es más frecuente de lo que consideramos. Sin embargo, es un modelo bien aceptado de lesión oxidativa. Debe enfatizarse nuevamente que esta forma de generación de oximetabolitos, siempre interactúa con otras, e incluso puede ser activada esta vía por situaciones no propiamente de isquemia, y a su vez, la aparición de metabolitos puede atraer neutrófilos o favorecer la activación de otras vías, p. ej. coagulación, complemento, o liberación de proteasas por neutrófilos así atraídos y estimulados. Por mencionar solo algunas situaciones clínicas: paro cardio-respiratorio; enfermedad vascular cerebral; infarto miocárdico agudo; trombolisis; cirugía de revascularización cardiaca; endarterectomía y todo tipo de cirugía vascular en general; trasplante orgánico; síndromes compartamentales musculares; insuficiencia renal aguda; enterocolitis necrotizante; gastritis y úlceras por stress. A pesar de que no lo consideramos así con frecuencia, prácticamente todas las situaciones de inestabilidad hemodinámica pueden generar en ciertas áreas orgánicas, situaciones de isquemia-reperusión, al producir trastornos en el aporte de oxígeno, que después mejoramos, en una situación similar a la reperusión, al optimizar las variables de aporte. Definitivamente existen en particular lechos en gran riesgo de presentar este tipo de situaciones, por solo mencionar una, recordemos toda la información sobre hipoperfusión gástrica que no ha proporcionado el contar con tonometría gástrica, la que enfatiza el papel fisiopatológico de la hipoperfusión, en forma muy temprana, a veces insospechada y grave.

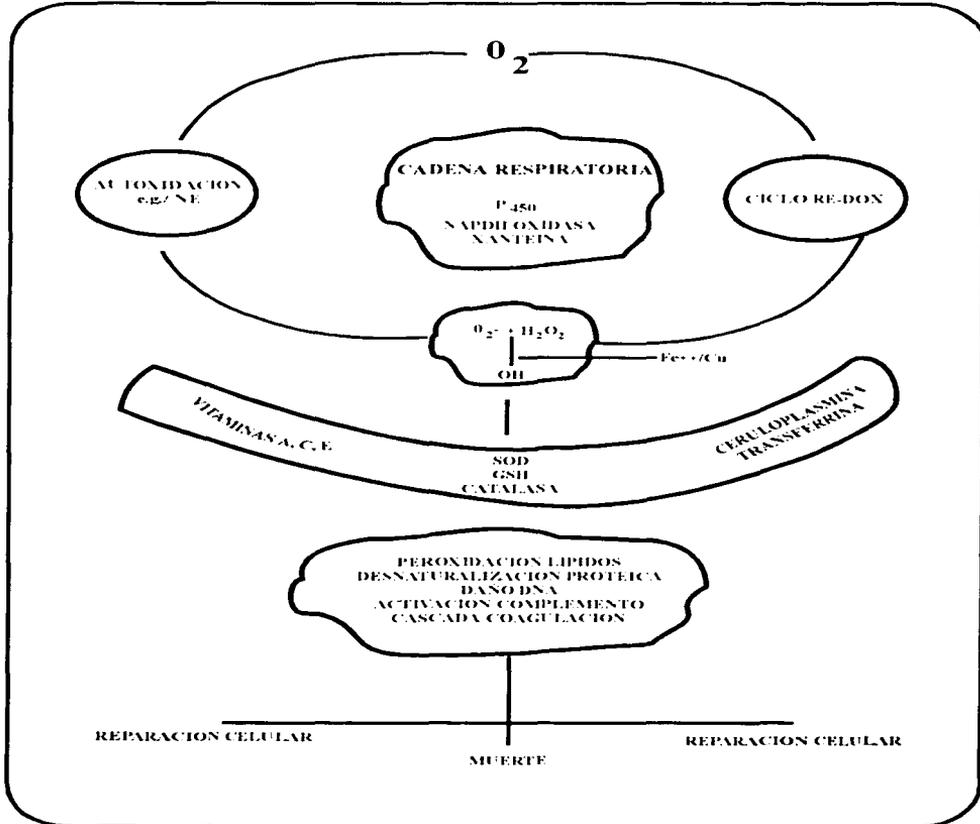
Evidentemente la sepsis, el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, y la Falla Orgánica Múltiple conjuntan de una u otra forma la activación primero racional y benéfica de todas las cascadas que se han mencionado a lo largo de esta exposición, activación que, de persistir, puede indudablemente llevar a daño molecular, celular, orgánico y a disfunción de aparatos y sistemas. Se ha intentado resaltar principalmente



La lesión por isquemia-reperfusion tiene interacciones con múltiples vías y mediadores endógenos, y tiene entonces diversos abordajes terapéuticos potenciales.

el papel fisiopatológico de los mismos, enfatizando el papel de los Metabolitos Tóxicos Derivados del Oxígeno, por considerar ésta un área en la cual ya se tiene una gran cantidad de información, y a la que finalmente se le ve con frecuencia en una forma un tanto soslayada, o al menos, sin concederle la importancia que tiene en la fisiopatología integral de todas estas entidades, ya que con gran frecuencia lo vemos como un tema separado o independiente, mientras que por la información actual, podemos fácilmente integrarlo al resto de cascadas o mediadores activados en las situaciones que nos ocupan todos los días en el cuidado del paciente críticamente enfermo.

DAÑO POR MTO2



Se esquematiza en forma muy simplificada el daño por MTO2, sus fuentes, metabolitos principales, defensas antioxidantes y consecuencias.

METABOLITOS TOXICOS DEL OXIGENO**Conclusiones**

El conjunto de evidencia clínica y experimental, indirecta y directa, sugiere muy fuertemente que los metabolitos tóxicos del oxígeno pueden jugar un papel dual: defensivo y capaz de producir auto-daño. La generación excesiva de estos elementos puede estar profundamente involucrada en la fisiopatología de las enfermedades críticas. En estas circunstancias, se debe reconocer la activación de múltiples vías tanto de mediación como producción de daño, existiendo una concertación de toda esta serie de cascadas biológicas. Los metabolitos tóxicos del oxígeno tienen un papel muy particular pues con mayor facilidad que otras vías, enfatizan el papel dual del que nos hemos estado ocupando a lo largo de esta exposición. Es necesario conceptualmente integrarlos de lleno al concepto global de la fisiopatología del paciente críticamente enfermo. Existen múltiples puntos de contacto e interacción con otros mediadores. Se ha demostrado su producción en exceso en estas circunstancias, y existe un gran potencial terapéutico que ya se está explotando en la actualidad, con resultados menos conflictivos que otros enfoques novedosos de manejo en estos pacientes. Resultados aparentemente contradictorios en varios trabajos pueden explicarse más bien por diferencias en diseño y la poca disponibilidad de recursos en algunos casos, pero esto no pone en duda su potencial e incluso realidad terapéutica. Nuevamente estos conceptos enfatizan la gran importancia del conocimiento fisiopatológico en el cuidado del paciente críticamente enfermo.

B I B L I O G R A F I A

1. Radi, R. Beckman JS et al: Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. *J Biol Chem* 266:4244-4250; 1991
2. Ruuge EK, Ledenev AN et al: Free radical metabolites in myocardium during ischemia and reperfusion. *Am J Physiol* 261 (suppl)81-86; 1991
3. Southorn PA, Powis G: Free radicals in medicine. *Mayo Clin Proc* 63:381-389; 1988
4. Chance BH, Boveris A: Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 59:527-605; 1979
5. Cross CE, Halliwell B et al: Oxygen radicals and human disease. *Ann Int Med* 107:526-545; 1987
6. Lehrer RI, Ganz T et al: Neutrophils and host defense. *Ann Int Med* 109:127-142; 1988
7. Weiss SJ: Tissue destruction by neutrophils. *N Eng J Med* 320:365-372; 1990
8. Sznajder JI, Fraiman A et al: Increased hydrogen peroxide in the expired breath of patients with acute hypoxemic respiratory failure *Chest* 96:606-612; 1989
9. Baldwin SR, Simon RH et al: Oxidant activity in expired breath of patients with adult respiratory distress syndrome. *Lancet* 1:11-14 1986
10. Morita S, Snider MT et al: Increased N pentane excretion in humans: A consequence of pulmonary oxygen exposure. *Anesthesiology* 64:730-33 1986
11. Jenkinson SG: Oxygen toxicity. *J Int Care Med* 3:137-152; 1988
12. Davis WB, Rennard SI et al: Pulmonary oxygen toxicity *N Engl J Med* 309:878-883; 1983
13. Thom SR: Hyperbaric oxygen toxicity. *J Int Care Med* 4:58-74; 1989
14. Yasaka T, Okudaira K et al: Further studies of lipid peroxidation in human paraquat poisoning. *Arch Int Med* 146:681-685; 1986
15. Weiland JE, Davis WB: Lung neutrophils in the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Resp Dis* 133:218-225; 1986
16. Ognibene FP, Martin SE et al: Adult respiratory distress syndrome in patients with severe neutropenia *N Eng J Med* 315:547-551; 1986
17. Bone RC: The pathogenesis of sepsis. *Ann Int Med* 115:457-469; 1991
18. Morrison DC, Ryan JL: Endotoxin and disease mechanism *Annu Rev Med* 38:417-423; 1987
19. Cunnon RF, Parrillo JE: Myocardial dysfunction in sepsis: Recent insights *Chest* 95:941-945; 1989
20. Tracey KJ, Vlassara H: Cachectin/tumor necrosis factor *Lancet* i:1122-1126; 1989
21. Harris RL, Musher RM: Manifestations of sepsis *Arch Intern Med* 147:1895-1906; 1987
22. Tagan MC, Markert M et al: Oxidative metabolism in circulating granulocytes in adult respiratory distress syndrome *Am J Med (Suppl 3C)* 72S-78S; 1991
23. Falchuck KH: Effect of acute disease and ACTH on serum zinc proteins. *N Engl J Med* 296:1129-1134; 1977
24. Richard C, Lemonnier F et al: Vitamin E deficiency and lipoperoxidation during adult respiratory distress syndrome *Crit Care Med* 18:4-9; 1990
25. Halliwell B: Drug antioxidant effects *Drugs* 42:569-605; 1991

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

26. Sugino K, Dohi K et al: The role of lipid peroxidation in endotoxin induced hepatic damage and the protective effect of antioxidants Surgery 101:746-752; 1987
27. Powell RJ, Machiedo GW et al: Effect of oxygen free radical scavengers on survival in sepsis Am Surg 57:86-88; 1991
28. Bernard GR: N-acetyl cysteine in experimental and clinical acute lung injury Am J Med 91 (suppl 3C):54S-59S; 1991
29. Jepsen S, Herlevsen P et al: Antioxidant treatment with n-acetyl-cysteine during adult respiratory distress syndrome: A prospective randomized placebo controlled study Crit Care Med 20:918-923; 1992
30. Novelli GP: Oxygen radicals in experimental shock. Effects of spin-trapping nitrones in ameliorating shock pathophysiology Crit Care Med 20:499-507; 1992
31. Flanagan RJ, Meredith TJ: Use of n-acetyl-cysteine in clinical toxicology. Am J Med 91(suppl 3C):131s-139s; 1991
32. Goode HF, Nigel R et al: Free radicals and antioxidants in sepsis Crit Care Med 21:1770-1776; 1993
33. McCord JM: Oxygen-Derived free radicals New Horizons 1:70-76; 1993
34. Fishman AP: Update: Pulmonary diseases and disorders McGraw-Hill Oxygen radicals and lung disease 159-174; 1992
35. Fishman AP: Tumor Necrosis Factor (cachectin) and the adult respiratory distress syndrome McGraw-Hill 175-183; 1992
36. Fry DE: Oxygen free radicals in Multiple System Organ Failure. Mosby Year Book 143-166; 1991
37. Lowry SF: Immunotherapy of sepsis: the role of cytokine mediators and the potential for attenuation of their activity in Critical Care State of the Art. Society of Critical Care Medicine; 109-130; 1993
38. Deitch EA: Overview of multiple organ failure in Critical Care State of the Art. Society of Critical Care Medicine; 131-168; 1993